

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 16 April 1999 (16.04.99)	
International application No. PCT/EP98/04726	Applicant's or agent's file reference EM 49-97
International filing date (day/month/year) 29 July 1998 (29.07.98)	Priority date (day/month/year) 30 July 1997 (30.07.97)
Applicant LÖWE, Holger et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

19 February 1999 (19.02.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Jean-Marie McAdams
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

BEST AVAILABLE COPY

DEUTSCHES PATENTAMT

München, den 11. Februar 1998

(089) 2195 - 3206

Aktenzeichen: 197 32 710.9

Anmelder: s.Adr.

PTO/PCT Rec'd 27 JAN 2000

Deutsches Patentamt - 80297 München

Ihr Zeichen: EM 49-97

Institut für
Mikrotechnik Mainz GmbH
Carl-Zeiss-Str. 18

55129 Mainz

Eingang: 06. FEB. 1998				
WE	DE	PL	NO	PTO
MA	IN	TE	CH	MS
Weiter an:				

Bitte Aktenzeichen und Anmelder bei
allen Eingaben und Zahlungen angeben
Zutreffendes ist angekreuzt ☒ und/oder aus ausgefüllt

Ergebnis einer Druckschriftenermittlung

Auf den Antrag des
wirksam am 14. August 1997 gemäß ☒ § 43 Patentgesetz ☐ § 7 Gebrauchsmustergesetz
sind die auf den beigefügten Anlagen angegebenen öffentlichen Druckschriften ermittelt worden.
Ermittelt wurde in folgenden Patentklassen:

Klasse/Gruppe	Prüfer	Patentabt.
C12G 1/00, 1/022, 1/073	Pfanzelt	41
C12C 11/09	Pfanzelt	41
C12P 7/04, 7/06	Dr. Bader	42
C12M 1/24, 1/40	Heinze	41

Die Recherche im Deutschen Patentamt stützt sich auf die Patentliteratur folgender Länder und Organisationen:

Deutschland (DE, DD), Österreich, Schweiz, Frankreich, Großbritannien, USA, Japan (Abstracts),
UDSSR (Abstracts), Europäisches Patentamt, WIPO.

Recherchiert wurde außerdem in folgenden Datenbanken:

Anlagen:

Anlagen 1, 2 und 3 zur Mitteilung der ermittelten Druckschriften

17 Druckschrift(en) bzw. Ablichtung(en)

Patentabteilung 11
Recherchen-Leitstelle



197 32 710.9

Anlage 1

zur Mitteilung über die ermittelten Druckschriften
gemäß § 43 des Patentgesetzes

Druckschriften:

DE 34 32 923 C2
DE 39 08 997 A1
US 52 88 637
US 46 59 662
EP 05 08 344 A2

DE 39 26 609 A1
DE 297 06 379 U1
US 49 96 150
US 43 80 552

Literatur:

LÜDERS, Jutta: Technologie mit immobilisierten Hefen. In: Brauwelt 3/1994, S.57-62;
BUSCHKIEL, D., u.a.: Biologischer Säurabbau in Wein. In: BIOforum 1-2/94, S.3-8;
ARIGA, Osamu, et.a.: Encapsulation of Biocatalyst with PVA Capsules. In: Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol.78, No.1, 1994, S.74-78;
MANSFELD, J., et.al.: Immobilization of invertase by encapsulation in polyelectrolyte complexes. In: Enzyme Microb. Technol., 1991, Vol.13, March, S.240-244;
MANSFELD, Johanna, et.al.: Coimmobilization of Yarrowia lipolytica cells and invertase in polyelectrolyte complex microcapsules. In: Enzyme Microb. Technol., 1995, Vol.17, Jan., S.11-17;
STEFUCA, Vladimir, et.al.: Polyelectrolyte Complex Capsules as a Material for Enzyme Immobilization. In: Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol.30, 1991, S.313-324;

197 32 710.9

Anlage 2

zur Mitteilung über die ermittelten Druckschriften
gemäß § 43 des Patentgesetzes

Sonstiges:

\$ JP Patents Abstracts of Japan:

61-100186 A., C-374, Sep. 24, 1986, Vol. 10, No. 280;

62-158485 A., C-466, Dec. 25, 1987, Vol. 11, No. 398;

DEUTSCHES PATENTAMT

80297 München

Anlage 2

zur Mitteilung der ermittelten Druckschriften

Aktenzeichen

197 32 710.9

Erläuterungen zu den ermittelten Druckschriften:

1	2		3
Kategorie	Ermittelte Druckschriften/Erläuterungen		Betrifft Anspruch
X, Y	DE	39 08 997 A1	1, 2, 5, 6, 18, 21
X, Y	DE	34 32 923 C2	"
X, Y	US	46 59 662 Abstract	"
Y	US	43 80 552 Abstract	18, 24
Y	US	49 96 150 Sp. 2, Zeile 59- Sp. 4, Zeile 17	1, 15, 18
Y	DE	39 26 609 A1	27-30
Y	EP	05 08 344 A2	27, 29-31
Y	DE	297 06 379 U1	32
Y	US	52 88 637	33
Y	LÜDERS, Jutta: Technologie mit immobilisierten Hefen. In: Brauwelt 3/1994, S. 57-62;		27-29
Y	BUSCHKIEL, D., u.a.: Biologischer Säureabbau in Wein. In: BIOforum 1-2/94, S. 3-8;		29-31
Y	ARIGA, Osamu, et.al.: Encapsulation of Biocatalyst with PVA Capsules. In: Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol. 78, No. 1, 1994, S. 74-S. 78;		8
Y	MANSFELD, J., et.al.: Immobilization of invertase by encapsulation in polyelectrolyte complexes. In: Enzyme Microb. Technol., 1991, Vol. 13, March, S. 240-244;		8, 13, 14
Y	MANSFELD, J., et.al.: Coimmobilization of Yarrowia lipolytica cells and invertase in polyelectrolyte complex microcapsules. In: Enzyme Microb. Technol., 1995, Vol. 17, Jan., S. 11-17;		9, 13, 14

DEUTSCHES PATENTAMT

80297 München

Anlage 2

zur Mitteilung der ermittelten Druckschriften

Aktenzeichen

197 32 710.9

Erläuterungen zu den ermittelten Druckschriften:

1	2	3
Kate- gorie	Ermittelte Druckschriften/Erläuterungen	Betrifft Anspruch
Y	SEFUCA, Vladimir, et. al.: Polyelectrolyte Complex Capsules as A Material for Enzyme Immobilization. In: Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 30, 1991, S. 313-324;	8, 13, 14
Y	JP Patent Abstracts of Japan: 61-100186 A., C-374, Sep. 24, 1986, Vol. 10, No. 280;	30, 31
Y	62-158485 A., C-466, Dec. 25, 1987, Vol. 11, No. 398;	1

Hinweise zur Mitteilung (Vordruck P 2251)

Eine Gewähr für die Vollständigkeit der Ermittlung wird nicht geleistet (§ 43 Abs. 7 Patentgesetz bzw. § 7 Abs. 2 Gebrauchsmustergesetz i.V.m. § 43 Abs. 7 Satz 1 Patentgesetz).

Die angegebene Patentliteratur kann in den Auslegehallen des Deutschen Patentamts, 80331 München, Zweibrückenstraße 12 oder 10969 Berlin, Gitschiner Str. 97 eingesehen werden; deutsche Patentschriften, Auslegeschriften und Offenlegungsschriften auch in den Patentinformationszentren. Ein Verzeichnis über diese Patentinformationszentren kann auf Wunsch vom Deutschen Patentamt sowie von einigen Privatfirmen bezogen werden.

Erklärungen zur Anlage 2 (Vordruck P 2253)

Spalte 1: Kategorie

Es bedeutet:

- X: Druckschriften, die Neuheit oder Erfindungshöhe allein in Frage stellen
- Y: Druckschriften, die die Erfindungshöhe zusammen mit anderen Druckschriften in Frage stellen
- A: Allgemein zum Stand der Technik, technologischer Hintergrund
- O: Nicht-schriftliche Offenbarung, z.B. ein in einer nachveröffentlichten Druckschrift abgedruckter Vortrag, der vor dem Anmelde- oder Prioritätstag öffentlich gehalten wurde
- P: Im Prioritätsintervall veröffentlichte Druckschriften
- T: Nachveröffentlichte, nicht kollidierende Druckschriften, die die Theorie der angemeldeten Erfindung betreffen und für ein besseres Verständnis der angemeldeten Erfindung nützlich sein können bzw. zeigen, daß der angemeldeten Erfindung zugrunde liegende Gedankengänge oder Sachverhalte falsch sein könnten
- E: Ältere Anmeldungen gemäß § 3 Abs. 2 PatG (bei Recherchen nach § 43 PatG); ältere Patentanmeldungen oder ältere Gebrauchsmuster gemäß § 15 GbmG (bei Recherchen nach § 7 GbmG)
- D: Druckschriften, die bereits in der Patentanmeldung genannt sind
- L: Aus besonderen Gründen genannte Druckschriften, z.B. zum Veröffentlichungstag einer Entgeghaltung oder bei Zweifeln an der Priorität.

Spalte 2: Ermittelte Druckschriften / Erläuterungen

Veröff.: Veröffentlichungstag einer Druckschrift im Prioritätsintervall

nr: Nicht recherchiert, da allgemein bekannter Stand der Technik, oder nicht recherchierbar

=: Druckschriften, die auf dieselbe Ursprungsanmeldung zurückgehen ("Patentfamilien") oder auf die sich Referate oder Abstracts beziehen.

"-": Nichts ermittelt

Spalte 3: Betroffene Ansprüche

Hier sind die Ansprüche unter Zuordnung zu den in Spalte 2 genannten relevanten Stellen angegeben.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENSARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK
MAINZ GMBH
Carl-Zeiss-Strasse 18-20
D-55129 Mainz
ALLEMAGNE

Eingang: 29. APR. 1999 IMM					
AE	UE	FRU	HS	AN	ML
LO	HDE	FM	LW	HJH	DE
SE	PM	DN	STH		
weiter an					

PCT

SCHRIFTLICHER BESCHEID
(Regel 66 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

27. 04.99

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

EM 49-97

ANTWORT FÄLLIG innerhalb von 3 Monaten
ab obigem Absendedatum

27. 7.99

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP98/04726

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)

29/07/1998

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)

30/07/1997

Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK

C12G1/02

Anmelder

INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH et al.

1. Dieser Bescheid ist der erste schriftliche Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde
2. Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- | | | |
|------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I | <input checked="" type="checkbox"/> | Grundlage des Bescheides |
| II | <input type="checkbox"/> | Priorität |
| III | <input type="checkbox"/> | Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit |
| IV | <input type="checkbox"/> | Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung |
| V | <input checked="" type="checkbox"/> | Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung |
| VI | <input type="checkbox"/> | Bestimmte angeführte Unterlagen |
| VII | <input checked="" type="checkbox"/> | Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung |
| VIII | <input checked="" type="checkbox"/> | Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung |

3. Der Anmelder wird aufgefordert, zu diesem Bescheid Stellung zu nehmen

Wann? Siehe oben genannte Frist. Der Anmelder kann vor Ablauf dieser Frist bei der Behörde eine Verlängerung beantragen, siehe Regel 66.2 d).

Wie? Durch Einreichung einer schriftlichen Stellungnahme und gegebenenfalls von Änderungen nach Regel 66.3. Zu Form und Sprache der Änderungen, siehe Regeln 66.8 und 66.9.

Dazu: Hinsichtlich einer zusätzlichen Möglichkeit zur Einreichung von Änderungen, siehe Regel 66.4. Hinsichtlich der Verpflichtung des Prüfers, Änderungen und/oder Gegenvorstellungen zu berücksichtigen, siehe Regel 66.4 bis. Hinsichtlich einer formlosen Erörterung mit dem Prüfer, siehe Regel 66.6.

Wird keine Stellungnahme eingereicht, so wird der internationale vorläufige Prüfungsbericht auf der Grundlage dieses Bescheides erstellt.

4. Der Tag, an dem der internationale vorläufige Prüfungsbericht gemäß Regel 69.2 spätestens erstellt sein muß, ist der: 30/11/1999.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragte Behörde:

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d
Fax: (+49-89) 2399-4465

Bevollmächtigter Bediensteter / Prüfer

Thiele, U

Formalsachbearbeiter (einschl. Fristverlängerung)
Houyez-Stevens, M
Tel. (+49-89) 2399 8163



I. Grundlage des Bescheids

1. Dieser Bescheid wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Bescheids als "ursprünglich eingereicht"*):

Beschreibung, Seiten:

1-14 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-21 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/1 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

3. Dieser Bescheid ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ansprüche	1-9,12,15-17,19-21
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ansprüche	1-21
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

Sektion V

- 1) Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1 WO-A-9 423 832
D2 US-A-5 627 062
D3 EP-A-0 133 346
D4 EP-A-0 681 834

- 2) Die vorliegende Anmeldung erfüllt das in Artikel 33(2) PCT genannte Kriterium nicht, weil der Gegenstand der Ansprüche 1 - 9, 12, 15 - 17 und 19 - 21 im Hinblick auf den in der Ausführungsordnung umschriebenen Stand der Technik (Regel 64.1 - 64.3 PCT) nicht neu ist.

Als Vorbemerkung scheint es wichtig darauf hinzuweisen, daß gemäß vorliegender Anmeldung (siehe z.B. Anspruch 5 im Kontext mit Anspruch 1) zumindest eine Hüllmembranschicht aus dem gleichen Material wie die einbettende Matrix bestehen kann.

D1 (siehe insbesondere Seite 2, Zeilen 12 - 14; Seite 3, Zeilen 12 - 16; Seite 4, Zeilen 4 - 16 und 31 - 32; Seite 6, Zeilen 23 - 28; Seite 9, Zeilen 8 - Seite 10, Zeile 23; Seite 16, Zeilen 10 - 19; Seite 19, Zeile 33 - Seite 20, Zeile 22; Seite 23, Zeile 26ff; Beispiel 9; Ansprüche) offenbart Mikrokapseln im Sinne des vorliegenden Anspruchs 1, wobei die periphere Membran aus dem Transacylierungsprodukt veresterter Polysaccharide und eines Polyamins besteht. Die Polymere können Alginsäure und/oder Polymethylacrylat enthalten. Das Innere der Mikrokapseln kann verflüssigt sein. D1 ist somit neuheitsschädlich für den Gegenstand der Ansprüche 1 - 9, 12, 15 - 17, 19 - 21.

D2 (Zusammenfassung; Spalte 2, Zeile 62 - Spalte 3, Zeile 65; Spalte 4, Zeilen 59 - 63; Spalte 6, Zeilen 21 - 25; Spalte 8, Zeilen 6 - 9; Beispiel II; Ansprüche 4, 5, 15, 16) offenbart Mikrokapseln im Sinne des vorliegenden Anspruchs 1, die mit einer Doppelschicht-Membranenstruktur ausgestattet sind, wobei die innere Schicht aus dem die Mikroorganismen einschließenden Gelmaterial besteht und die äußere Schicht im wesentlichen frei von den besagten Zellen ist. D2 ist somit

neuheitsschädlich für den Gegenstand der Ansprüche 1 - 5, 8, 9, 15 - 17 und 20 - 21.

D3 offenbart Mittel zur Herstellung alkoholhaltiger Getränke, wobei Hefe in Polymermatrices immobilisiert ist, und die Matrix von einer permeablen Schicht umhüllt ist (siehe Seite 13, Punkte 1 - 4). Die Hefezellen vermögen nicht aus den Mikrokapseln auszutreten (siehe Seite 13, letzter Absatz - Seite 14, dritter Absatz). D3 ist somit neuheitsschädlich für den Gegenstand der Ansprüche 1, 2, 3, 5, 8, 9, 15, 20 und 21.

- 3) Die abhängigen Ansprüche 10, 11, 13, 14 und 18 enthalten keine Merkmale, die in Kombination mit den Merkmalen irgendeines Anspruchs, auf den sie sich beziehen, die Erfordernisse des PCT in bezug auf erfinderische Tätigkeit erfüllen (Art. 33(3) PCT). Die Gründe dafür sind die folgenden:

Der Gegenstand der Ansprüche 10, 11, 13 und 14 ist für den Fachmann naheliegend, sobald einmal das Grundprinzip der Doppelmembranmikrokapseln in der Herstellung alkoholischer Getränke bekannt ist. Die Parameter aus Anspruch 18 scheinen lediglich aus einer beliebigen Auswahl aus einer Vielzahl möglicher naheliegender Bereiche zu resultieren und keinen unerwarteten technischen Effekt zu zeitigen.

- 4) Ist scheint auch wichtig zu erwähnen, daß erfindungsgemäße Mikrokapseln aus D4 bekannt sind. Dort sind sie für biotechnologische Anwendungen empfohlen. Deren Verwendung mit gleicher Wirkung, d.h. langfristige am-Leben-Erhaltung eingeschlossener Zellen und Enzyme in optimalem aktivem Zustand bei kontrolliertem Stoffaustausch zum Beispiel in Bioreaktoren (siehe Spalte 1, Zeilen 26 - 49) zu ähnlichem Zweck in der Herstellung alkoholischer Getränke ist aufgrund der Gleichheit bzw. Ähnlichkeit der Materialien zu denen aus D1 - D3 für den Fachmann eine fachübliche Maßnahme.

Folglich ermangelt es dem Gegenstand der Ansprüche 1 - 21 an erfinderischer Tätigkeit im Hinblick auf die kombinierte Lehre aus D4 und D1 - D3, in Kombination oder einzeln genommen (Art. 33(3) PCT).

- 5) Gegenwärtig ist nicht erkennbar, welcher Teil der Anmeldung die Grundlage für einen neuen Anspruch bilden könnte, der die in Artikel 33(1) PCT genannten Kriterien erfüllen würde. Sollte die Anmelderin dennoch in irgendeiner Einzelheit etwas Patentfähiges sehen, so sollte sie einen im Einklang mit Regel 6.3(b) PCT abgefaßten unabhängigen Anspruch einreichen, der diese Einzelheit berücksichtigt. Im entsprechenden Antwortschreiben sollte sie zusätzlich anhand des Problem-Lösungs-Ansatzes angeben, wie sich diese Einzelheit vom Stand der Technik unterscheidet und worin ihre Bedeutung liegt.

Es ist allgemein anerkannt, daß das von einer Erfindung zu lösende technische Problem durch die Aufgabe, den nächsten Stand der Technik so abzuändern, daß mit dem Unterschied zum Stand der Technik verknüpfte technische Effekte erreicht werden, definiert werden kann. Die Lösung für das gestellte Problem ist in der Gesamtheit der technischen Merkmale zu sehen, die für diesen Effekt verantwortlich, jedoch im Stand der Technik nicht vorhanden sind.

Sektion VII

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1 - D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

Sektion VIII

- 1) Ein relativer Begriff wie "niedermolekulare[n] Alkohole[n]" ohne eindeutigen Bezugspunkt auf dem Gebiet der organischen Chemie, der keine allgemein anerkannte Bedeutung hinsichtlich seiner Höchstzahl an Kohlenstoffatomen hat, ist mehrdeutig und deshalb nicht geeignet, den Gegenstand des Schutzbegehrens im Anspruch 21 klar anzugeben (Art. 6 PCT).
- 2) Der Begriff "in hohen Ausbeuten" ist relativ, führt zu Unklarheiten, was den Schutzzumfang des Anspruchs 21 betrifft und ist nicht geeignet, den Gegenstand dieses Anspruchs vom Stand der Technik abzugrenzen (Art. 6 PCT; siehe auch

Richtlinien C-III, 4.5).

- 3) Der Schutzzumfang der Ansprüche 9 und 17 ist aufgrund der verwendeten Begriffe "vorzugsweise", "insbesondere", "wie [...]" unklar (Art. 6 PCT; siehe Richtlinien C-III, 4.6).

Vorab per Fax-Nr. 089 239 4465
9 Folgeseiten



Institut für
Mikrotechnik
Mainz

Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH, Postfach 100263, D-55133 Mainz

Europäisches Patentamt

D-80298 München

PTO/PCT Rec'd 27 JAN 2000

Rückfragen an Dietmar Krause

Zeichen EM 49-97

Durchwahl +49 61 31 / 990-133

Telefax +49 61 31 / 990-205

Datum 23.07.99

Internationale Patentanmeldung PCT/EP98/04726
"Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke,
..."
Prüfbescheid vom 27. April 1999

1. Geänderter Hauptanspruch

Beiliegend wird in zweifacher Ausfertigung ein geänderter Hauptanspruch überreicht, der sich vom ursprünglichen Anspruch 1 durch die Aufnahme des Merkmals unterscheidet, daß die Schichten keine der im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme aufweisen. Dieses Merkmal wurde dem dritten Absatz der Seite 4 entnommen.

2. Zu Sektion V des Prüfbescheids:

Zum angeführten Stand der Technik:

Die WO 94/23832, als D1 bezeichnet, beschreibt Teilchen, insbesondere Mikrokapseln, die an der Oberfläche eine Membran aus dem Produkt einer Transacylierungsreaktion zwischen einem veresterten Polysaccharid und einem Polyamin umfassen. Zu deren Herstellung werden Tröpfchen, die das zu verkapselnde Material, ein gelierbares Polysaccharid, ein verestertes Polysaccharid und ein

Geschäftsführer:
Prof. Dr. Wolfgang Ehrfeld
Dr. Ursula Ehrfeld

Vorsitzender des Aufsichtsrates:
Staatssekretär Günter Eymael

Sparkasse Mainz
BLZ 550 501 20 Konto 29 066
Landesbank Rheinland-Pfalz
BLZ 550 500 00 Konto 110 094 463

Registergericht Mainz: 14 HRB 4471
USt.-IdNr.: DE 149 054 596

Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH
Carl-Zeiss-Straße 18-20
D-55129 Mainz

Telefon: +49 61 31 / 990-0
Telefax: +49 61 31 / 990-205
<http://www.imm-mainz.de>

Polyamin aufweisen in ein Gelierungsbad fallen gelassen. Die so erhaltenen Teilchen werden in eine alkalische Lösung gebracht, um die Transacylierungsreaktion auszulösen. Hierbei wird an der Oberfläche der gelierten Teilchen eine Membran ausgebildet. Als Polyamin-Substanz kann eine Polysaccharid, das Amin-Gruppen trägt, wie Chitosan, verwendet werden (Seite 16, Zeilen 10 bis 12). Die Dicke der Membran, ihre Bioabbaubarkeit und die Enge ihrer Poren kann durch die Dauer der Transacylierungsreaktion und durch die Bedingungen der Alkalisierung gesteuert werden (Seite 5, Zeile 33 bis Seite 6, Zeile 3; Seite 7, Zeilen 18 bis 22). Mit der Variation der Dicke der Membran bietet sich die Möglichkeit der Einstellung der Membraneigenschaften, etwa der Diffusionskinetik des Inhalts im externen Medium (Seite 6, Zeilen 28 und 29; Seite 7, Zeilen 1 bis 3). Die Teilchen weisen einen zentralen Teil, der aus einer gelierten oder verflüssigten wässrigen Phase, die Zellen oder Enzyme enthält, besteht, und eine äußere Schicht auf, die das eingeschlossene Material, wie Zellen oder Enzyme, nicht enthält (Seite 10, Zeilen 1 bis 13).

Die US 5,627,062, als D2 bezeichnet, betrifft Teilchen aus einem Gel mit einer Doppel-Lagen-Struktur. Die innere Lage oder der Kern der Gel-Teilchen enthält die zu immobilisierenden Mikroorganismen. Die äußere Lage ist im wesentlichen ohne diese Mikroorganismen. Als Mikroorganismen werden bevorzugt Hefen zur Schaumweinherstellung genannt.

Die EP 0 133 346 A2, als D3 geführt, beschreibt ein Verfahren zur Durchführung der alkoholischen Gärung, wobei die Hefe entweder von einem porösen Behälter eingeschlossen ist, dessen Porosität ein Austreten der Hefen verhindert, oder auf einem Substrat immobilisiert ist, das sich innerhalb des Gefäßes befindet. Als Möglichkeiten zur Immobilisierung werden die Immobilisierung in einer Polymermatrix, Adsorption auf einem Träger, chemische Bindung zu einem Träger oder die Kombination der genannten Möglichkeiten mit einer dünnen Hülle aus einem permeablen Material, wie Silicon oder Plastik, erwähnt (Seite 13, Punkte 1 bis 4).

Die als D4 bezeichnete EP 0 681 834 A1 wurde bereits in der vorliegenden Anmeldung auf der Seite 5, vorletzte Zeile bis Seite 6, erster Absatz, gewürdigt.

.....

Unterschiede der vorliegenden Erfindung zum angeführten Stand der Technik:

Im Gegensatz zur vorliegenden Erfindung beschreibt die D1 Mikrokapseln mit einer Hüllmembran aus lediglich einer einzigen Schicht. Die Mikrokapseln nach D1 erlauben ein Einstellen der Membraneigenschaften, beispielsweise der Durchlässigkeit und der mechanischen Stabilität, nur durch Variation der Eigenschaften dieser einen, die Hüllmembran aufbauenden Schicht. Damit ist kein unabhängiges Einstellen von beispielsweise der Porosität und der mechanischen Eigenschaften der Mikrokapseln möglich. Die Eigenschaften der Membran werden im wesentlichen über die Membrandicke eingestellt, was bei dicken Membranen lange Diffusionswege und damit einen schlechteren Austausch zwischen dem Kapselinneren und dem Äußeren zur Folge hat. Zwar liegen in der Hüllmembran stabile kovalente Bindungen vor, jedoch erfordert der Aufbau der Membran alkalische Bedingungen zum Start der Transacylierung. Unter alkalischen Bedingungen kann jedoch eine Schädigung des eingekapselten Materials, beispielsweise eine Denaturierung von Enzymen, stattfinden.

Das erfindungsgemäße Mittel besteht dagegen aus Mikrokapseln, deren Hüllmembran mindestens zwei Schichten aufweist. Durch die Kombination der individuellen Eigenschaften der einzelnen Schichten zu einer Hüllmembran, können die Membraneigenschaften in einer wesentlich größeren Variationsbreite eingestellt werden. So kann beispielsweise die mechanische Stabilität durch eine Schicht und unabhängig davon die Porosität durch eine weitere Schicht eingestellt werden. Damit können unterschiedliche Anforderungen an die Hüllmembran bei der Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, beispielsweise durch den Einsatz sich rasch vermehrender Hefen oder kleiner Enzyme, gezielt erfüllt werden. Der Aufbau der Membran, beispielsweise durch Komplexierung, erfordert keine drastischen Reaktionsbedingungen und ist damit nicht schädigend für das immobilisierte Material.

.....

Aufgrund des unterschiedlichen Aufbaus der Hüllmembran, die D1 offenbart nur einschichtige Hüllmembranen, während die vorliegende Erfindung eine mindestens zweischichtige Hüllmembran beschreibt, ist die vorliegende Erfindung gegenüber der D1 neu. Darüber hinaus ist der D1 kein Hinweis zu entnehmen, daß die Hüllmembran aus zwei oder mehr Schichten, ob aus dem gleichen oder unterschiedlichen Materialien, aufgebaut sein kann.

Formal wird in der D2 eine Hüllmembran mit zwei Schichten beschrieben. Jedoch ist die innere Schicht, da sie aus dem gleichen Material wie das Kapselinnere besteht und auch Zellen aufweist, nicht vom Kapselinneren eindeutig zu unterscheiden. Ebenso ist aufgrund des Herstellungsverfahrens die äußere Schicht nicht klar von der inneren Schicht zu unterscheiden. So wird bei der Herstellung versucht, die Doppelschicht schon im flüssigen Zustand vorzugeben, indem ein Zellen enthaltender Fluidstrom von einer zellfreien Flüssigkeit umgeben wird. Die so erhaltenen Tropfen fallen in ein Fällbad. Aufgrund von unvermeidlichen Vermischungsvorgängen kommt es zu einer Verteilung der einzukapselnden Zellen, so daß die Hüllmembran nicht aus zwei Schichten aufgebaut ist, sondern lediglich in der einen Schicht von Innen nach Außen die Konzentration an eingeschlossenen Zellen abnimmt. Die Aufteilung der Hüllmembran in zwei Schichten ist rein formal und beruht allein auf der unterschiedlichen Zellkonzentration. Weiterhin weist die Hüllmembran auch das Gelmaterial des Kapselinneren auf, so daß eine Verflüssigung des Kapselinneren ohne eine Zerstörung der Hüllmembran nicht in Frage kommt.

Bei der vorliegenden Erfindung liegt eine klare und eindeutige Trennung zwischen Kapselinneren und innerster Schicht der Hüllmembran vor. Des weiteren enthält die innerste Schicht keine der im Kapselinneren enthaltenen Zellen bzw. Enzyme. Schließlich werden die einzelnen Schichten konsekutiv aufgebracht, so daß eindeutig von einzelnen Schichten und nicht von einer Schicht mit nach Außen abnehmender Zellkonzentration gesprochen werden kann. Durch das explizite Aufbringen von einzelnen Schichten ist es möglich, die Materialien so zu wählen, daß eine Verflüssigung des Kapselinneren unter Erhalt der Hüllmembran möglich ist.

Aus diesen genannten Gründen liegt auch eine Neuheit der Erfindung in Bezug auf die D2 vor. Auch der D2 kann kein Hinweis auf einen der Erfindung entsprechenden Aufbau der Hüllmembran entnommen werden.

.....

In der D3 wird zwar die Idee einer permeablen Membran über in einer Polymermatrix immobilisierten Hefezellen geäußert, jedoch sind der D3 keinerlei Hinweise zu dem Aufbau der Membran, erst recht nicht zu einem mehrschichtigen Aufbau, zu entnehmen. Die Neuheit der vorliegenden Erfindung zur D3 ist damit offensichtlich.

Die D4 beschreibt Kapseln mit mehrschichtiger Hüllmembran, insbesondere zum Immobilisieren lebender Zellen zum Einsetzen in Gewebe von Lebewesen. Durch die Wahl der die Schichten der Hüllmembran aufbauenden Materialien können die mechanischen Eigenschaften und die Durchlässigkeit der Membran gezielt eingestellt werden. Der Einsatz oder die Modifikation solcher Kapseln als Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein, wird nicht genannt. Es wird auch kein Hinweis gegeben, daß solche Kapseln zur Immobilisierung proliferierender Zellen, wie Hefezellen, überhaupt einsetzbar sind. Ebenso ist aus der D4 nicht bekannt, ob solche Kapseln zur Immobilisierung von Zellen oder Enzymen verwendbar sind, die bei der Umsetzung gasförmige Produkte, wie Kohlendioxid, erzeugen. Darüber hinaus wird auch nicht die Möglichkeit der Verwendung in der Lebensmittelherstellung, insbesondere in großtechnischem Maßstab, erwähnt.

Die Prüfungsstelle hat zutreffenderweise die Neuheit der vorliegenden Erfindung gegenüber der D4 bejaht. Jedoch kann der Auffassung der Prüfungsstelle dahingehend nicht gefolgt werden, daß dem Gegenstand der Ansprüche 1 bis 21 an erfinderischer Tätigkeit im Hinblick auf die Kombination aus D4 und D1 bis D3 ermangelt.

Zur Kombination aus D4 und D1:

Die Kapseln nach D1 weisen sich durch eine Hüllmembran aus, die als Produkt einer Transacylierungsreaktion kovalente Bindungen aufweist. Solche Kapseln sollen auch für die Immobilisierung von Hefen, beispielsweise zur Herstellung von Bier oder Champagner, geeignet sein (Seite 20, Zeilen 3 bis 5). In der D1 werden als Stand der Technik Kapseln genannt, die eine durch Eintauchen von Alginat-Sphären in eine Lösung eines polykationischen Polymers erhaltene Schicht aufweisen. Zwischen dem Alginat und dem Polykation liegt eine Ionenbindung vor (Seite 1, Zeilen 21 bis 25). Als Anwendung wird die Fermentation in der Nahrungsmittelindustrie, beispielsweise von Bier oder Champagner,

.....

genannt. Da die Membranen solcher Kapseln Ionenbindungen statt kovalenter Bindungen aufweisen, besitzt die Membran nur eine begrenzte Stabilität. So hält die Membran dem durch eine Zellvermehrung in den Kapseln bedingten Druck nicht stand, wodurch immobilisierte Zellen in das umzusetzende Medium übertreten (Seite 2, Zeilen 12 bis 18).

Hieraus entnimmt der Fachmann die Lehre, zur Immobilisierung, insbesondere von Hefen, Kapseln zu verwenden, die Hüllmembranen mit einer Schicht mit bei der Herstellung geknüpften kovalenten Bindungen, wie in der D1 beschrieben, aufweisen. Der Fachmann, der sich die Aufgabe gestellt hat, Zellen, insbesondere Hefen, bzw. Enzyme dauerhaft zu immobilisieren, wird also gerade durch die D1 abgehalten, Kapseln nach D4 zu Fermentation in der Nahrungsmittelindustrie zu verwenden. Vielmehr betreffen D4 und D1 völlig unterschiedliche Lösungsansätze zur Immobilisierung von Zellen oder Enzymen, so daß für den Fachmann eine gedankliche Kombination der Lehre aus D4 mit der Lehre aus D1 nicht in Frage kommt. Daher liegt nach diesseitiger Auffassung sehr wohl auch im Hinblick auf die Schriften D4 und D1 eine erfinderische Tätigkeit vor.

Zur Kombination D4 mit D2, D3 bzw. dem in D1 zitierten Stand der Technik:

Dem Fachmann ist, beispielsweise aus der oben erwähnten, in D1 enthaltenen Würdigung zum Stand der Technik, bekannt, daß Kapseln mit einer Hüllmembran, die eine ionisch gebundene Schicht aufweist, nicht zum dauerhaften Immobilisieren von Hefezellen geeignet sind. So findet durch eine Vermehrung der Hefen ein Auswachsen aus der Kapsel in das umzusetzende Medium statt, was mit einer Zerstörung der Kapseln einhergehen kann. Bei Kapseln ohne Hüllmembran, beispielsweise Alginat-Kügelchen, ist dieser Nachteil sogar noch ausgeprägter. Dies trifft ebenfalls auf die in der D2 und D3 beschriebenen Kapseln, die keine durch Knüpfung kovalenter Bindungen erhaltene Schichten aufweisen, zu.

Bei einer gedanklichen Kombination der Lehre, Kapseln mit einer einschichtigen Hüllmembran, die nicht durch Knüpfung kovalenter Bindungen erhalten wurde, wie in der D1 zum Stand der Technik, in der D2 oder D3 beschrieben, zur Fermentation einzusetzen, mit der Lehre der D4, Kapseln mit einer mehrschichtigen Hüllmembran, bei der

.....•
ebenfalls die Schichten nicht durch Knüpfung kovalenter Bindungen erhalten wurden, würde ein Fachmann erwarten, daß:

- die immobilisierten Hefen durch das starke Wachstum aus den Kapseln austreten würden,
- die Hüllmembran durch das Hefewachstum und/ oder die Kohlendioxid-Produktion zerstört werden würde.

Selbst bei einer nicht zu erwartenden, ausreichenden mechanischen Stabilität der Hüllmembran würde der Fachmann vermuten, daß

- aufgrund des eingeschränkten Wachstums der Hefen diese ihre Aktivität reduzieren, einstellen oder gar absterben,
- aufgrund des mehrschichtigen Aufbaus der Hüllmembran kein für eine großtechnische Produktion ausreichend großer Stoffaustausch stattfinden würde und keine ausreichende mechanische Stabilität gewährleistet wäre.

Aus diesen Ausführungen ergibt sich nach diesseitiger Auffassung eindeutig, daß der Fachmann unter der gestellten Aufgabe eine Kombination der D4 mit der D1 bis D3 nicht ernsthaft in Erwägung gezogen hätte. Vielmehr hätte er die D1 als mögliche Lösung seiner Aufgabe näher betrachtet und sich daraufhin dem in der D1 zitierten Stand der Technik und der Lehre nach D2, D3 sowie D4 abgewandt.

Für den Fachmann wurde dagegen mit erfindungsgemäßen Kapseln, die eine Hüllmembran mit mindestens zwei Schichten aufweisen, völlig unerwartet und überraschend gefunden, daß

- die Hüllmembran der erfindungsgemäßen Kapseln ausreichend stabil ist, insbesondere auch unter sauren Bedingungen, wie beispielsweise bei der Weinherstellung,
- die mechanische Stabilität ausreicht, um auch Rührwerken in großen Fermentern standzuhalten und damit ein großtechnischer Einsatz in der Getränkeindustrie in Frage kommt,
- keine immobilisierten Zellen, insbesondere Hefezellen, auswachsen und damit das umzusetzende Medium zellfrei bleibt,

- keine Kohlendioxid-Anreicherung in den Kapseln eintritt,
- die Hefezellen sich anfänglich vermehren, dann jedoch ihr Wachstum einstellen,
- immobilisierte Hefezellen auch über lange Zeiträume eine hohe Aktivität beibehalten,
- die Aktivität gleich hoch derjenigen unverkapselter Hefen ist,
- trotz des mehrschichtigen Aufbaus ein guter Stofftransport durch die Hüllmembran stattfindet und damit ein großtechnischer Einsatz in Bioreaktoren zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke möglich ist.

Diese positiven Ergebnisse sind auch nach der Lehre aus D1 dahingehend völlig unerwartet, daß die erfindungsgemäßen Kapseln keine Hüllmembran aufweisen, bei deren Erzeugung kovalente Bindungen geknüpft wurden.

Damit sind die mit der erfindungsgemäßen Lehre erzielten Ergebnisse vor dem Hintergrund des vorliegenden Standes der Technik völlig unerwartet und überraschend, so daß nach diesseitiger Auffassung unzweifelhaft von einer erfinderischen Tätigkeit auszugehen ist.

3. Zu den Sektion VII und VIII des Prüfbescheids:

Zunächst wird auf eine Einbeziehung des einschlägigen Standes der Technik in die Beschreibung sowie auf eine Stellungnahme zu den in den Ansprüchen 9, 17 und 21 bemängelten Begriffen verzichtet und die Stellungnahme der Prüfungsstelle zur Neuheit und erfinderischen Tätigkeit der vorliegenden Ansprüche unter Berücksichtigung obiger Ausführungen abgewartet.

Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH



Dr. Ursula Ehrfeld

Stabsstelle Patente



Dietmar Krause

Geänderter Hauptanspruch

1. Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein,

bestehend aus Mikrokapseln, die jeweils mindestens eine das Kapselinnere vollständig umschließende Hüllmembran aufweisen, wobei das Kapselinnere Zellen mindestens einer Spezies von Mikroorganismen und/ oder ein oder mehrere Enzyme umfaßt, und

wobei die Hüllmembran für die im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme nicht durchlässig ist, und

wobei die Hüllmembran für die von den Zellen bzw. Enzymen umzusetzenden Edukte und für zumindest einen Teil der von den Zellen bzw. Enzymen umgesetzten Produkte durchlässig ist.

dadurch gekennzeichnet,

daß die Hüllmembran mindestens zwei radial übereinander angeordnete Schichten aufweist, wobei jede Schicht alle radial darunter angeordnete Schichten vollständig umschließt, und wobei die Schichten keine der im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme aufweisen.

PCT COOPERATION TREATY

Eingang: 3 0. APR. 1999 FIMM the INTERNATIONAL BUREAU

PCT	IE	FRU	HS	AN	ML
U	HDB	FM	LV	HJH	DO
AS	PM	DK	STR		

INFORMATION CONCERNING ELECTED
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTIONINSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ
GMBHCarl-Zeiss-Strasse 18-20
D-55129 Mainz
ALLEMAGNE

(PCT Rule 61.3)

Rec'd 27 JAN 2000

Date of mailing (day/month/year) 16 April 1999 (16.04.99)		Applicant's or agent's file reference EM 49-97		IMPORTANT INFORMATION
International application No. PCT/EP98/04726 ✓	International filing date (day/month/year) 29 July 1998 (29.07.98) ✓	Priority date (day/month/year) 30 July 1997 (30.07.97) ✓		
Applicant INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH et al				

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE
National : JP, US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

None

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 39(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

Ende PCT II - Phase 30.1.2000 bereits abgibt

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

Jean-Marie McAdams

Telephone No. (41-22) 338.83.38

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

3

Applicant's or agent's file reference EM 49-97	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/04726	International filing date (<i>day/month/year</i>) 29 July 1998 (29.07.1998)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 30 July 1997 (30.07.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12G 1/02, 1/073, C12C 11/09, C12N 11/04		
Applicant INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>1</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 19 February 1999 (19.02.1999)	Date of completion of this report 05 August 1999 (05.08.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/04726

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-14, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 2-21, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. 1, filed with the letter of 23 July 1999 (23.07.1999),
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/1, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 98/04726

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-21	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	9, 10, 12, 13, 20, 21	YES
	Claims	1-8, 11, 14-19	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-21	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1) Reference is made to the following documents:

- D1 WO-A-94/23832
- D2 US-A-5 627 062
- D3 EP-A-0 133 346
- D4 EP-A-0 681 834

2) The present application does not meet the criterion stipulated in PCT Article 33(3), since the subject matter of Claim 1, although novel (PCT Article 33(2)), does not involve an inventive step (PCT Rule 65.1 and 65.2).

a) D1 discloses merely particles, in particular microcapsules, which have a central part consisting of a thickened or liquefied aqueous phase that contains cells or enzymes and also has an outer layer that does not contain the incorporated material (cells, enzymes). Consequently, in contrast to the present Claim 1, D1 describes merely an enveloping membrane consisting of one layer.

D2 concerns gel particles with a double layer structure. The inner layer or the core of the gel

particles contains the micro-organisms to be immobilised. The outer layer is substantially free of said cells. Yeasts for producing sparkling wine are mentioned as preferred micro-organisms.

D3 simply describes a permeable membrane over yeast cells immobilised in a polymer matrix.

In contrast to the structures of D1-D3, the different layer structure in the present Claim 1 permits a plurality of properties (e.g. porosity; mechanical properties) to be set independently.

- b) D4 describes capsules with a multi-layer enveloping membrane, in particular for the immobilisation of living cells or of enzymes (see the claims) for use in the medical industry. The use of such capsules for the production and/or treatment of alcoholic beverages is not disclosed.

In response to the first written report, the applicants argued that, owing to the disadvantages of membranes with ion bonds, such as low mechanical stability, discussed in D1 (page 2, lines 12-18), a person skilled in the art would not have been induced to use similar enveloping structures with ion bonds, as known from D4, for immobilising fast-growing and/or carbon dioxide producing micro-organisms, such as yeasts.

It is noted that the partial sentence in Claim 1, "for the production and/or treatment of alcoholic beverages" is considered to mean suitable for the said treatment/production (cf. Guidelines, Chapter III, 4.8). The micro-organisms and enzymes are not

specified further in Claim 1. At least the use of specific enzymes (page 1, paragraph 2 of the description specifies pectinases for accelerating must clarification) would not, however, appear to result in the disadvantageous effects discussed by the applicants. The International Preliminary Examining Authority must rather assume that a person skilled in the art would at any time transfer knowledge available in a similar technical field to his own field if he has to carry out only routine work with the usual experimental effort and provided that no incalculable risks were involved. Obtaining enclosed enzymes in an optimally active state during controlled mass transfer, as proposed, for example, for bioreactors (cf. D4, column 1, lines 26-49), for a similar purpose in the production of alcoholic beverages is therefore a routine measure for a person skilled in the art.

Consequently, the subject matter of Claim 1 and of dependent Claims 2-8, 11 and 14-19 lacks inventive step over the teaching of D4 (PCT Article 33(3)).

- 3) The subjects of dependent Claims 9, 10, 12, 13 and of independent Claims 20 and 21 appear to be novel and inventive in the light of the known prior art (PCT Article 33(2) and (3)).

The applicants' argument mentioned above under point 2b concerning the reluctance of a person skilled in the art to use membranes with ion bonds for fast-growing micro-organisms from the production or treatment of alcoholic beverages can essentially be acknowledged. A person skilled in the art would therefore not have been induced to alter the

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/04726

capsules known from D1-D3 such that they have a multi-layer enveloping membrane as per D4. The advantages achieved are the same as discussed in point 2a above.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/04726

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite documents D1-D3 nor the relevant prior art disclosed therein.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

- 1) A relative expression such as "low molecular alcohol(s)" without a clear point of reference to the field of organic chemistry and which has no generally recognised meaning in relation to the maximum number of carbon atoms, is ambiguous and is therefore not suitable for clarifying the subject matter for which protection is sought in Claim 21 (PCT Article 6).
- 2) The expression "in high yields" is relative, renders the scope of protection of Claim 21 unclear and is not suitable for delimiting the subject matter of said claim from the prior art (PCT Article 6; see also Guidelines, Chapter III, 4.5).
- 3) Owing to the expressions "preferably", "in particular", "such as [...]", the scope of protection of Claims 9 and 17 is unclear (PCT Article 6; cf. Guidelines, Chapter III, 4.6).

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts EM 49-97	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04726	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/07/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 30/07/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12G1/02		
Anmelder INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH et al.		



1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 19/02/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 05. 08. 99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Bevollmächtigter Bediensteter Thiele, U Tel. Nr. (+49-89) 2399 

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/04726

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-14 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

2-21 ursprüngliche Fassung

1 eingegangen am 27/07/1999 mit Schreiben vom 23/07/1999

Zeichnungen, Blätter:

1/1 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-21
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	9,10,12,13,20,21
	Nein: Ansprüche	1-8,11,14-19
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-21
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

Sektion V

- 1) Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1 WO-A-9 423 832
D2 US-A-5 627 062
D3 EP-A-0 133 346
D4 EP-A-0 681 834

- 2) Die vorliegende Anmeldung erfüllt das in Artikel 33(3) PCT genannte Kriterium nicht, weil der Gegenstand des Anspruchs 1, obwohl neu (Art. 33(2) PCT), nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht (Regel 65.1, 65.2 PCT).

- a) D1 offenbart lediglich Teilchen, insbesondere Mikrokapseln, die einen zentralen Teil aufweisen, der aus einer gelierten oder verflüssigten wässrigen Phase, die Zellen oder Enzyme enthält, besteht sowie weiters eine äußere Schicht aufweisen, die das eingeschlossene Material (Zellen, Enzyme) nicht enthält. Somit beschreibt D1 im Gegensatz zu vorliegendem Anspruch 1 lediglich eine aus einer Schicht bestehende Hüllmembran.

D2 betrifft Teilchen aus einem Gel mit einer Doppellagenstruktur. Die innere Lage oder der Kern der Gelteilchen enthält die zu immobilisierenden Mikroorganismen. Die äußere Lage ist im wesentlichen frei von besagten Zellen. Als Mikroorganismen werden bevorzugt Hefen zur Schaumweinherstellung genannt.

D3 beschreibt lediglich eine permeable Membran über in einer Polymermatrix immobilisierten Hefezellen.

Der davon verschiedene Schichtaufbau aus vorliegendem Anspruch 1 erlaubt im Gegensatz zu den Konstrukten aus D1 - D3 das unabhängige Einstellen von mehreren Eigenschaften (z.B. Porosität; mechanische Eigenschaften).

- b) D4 beschreibt Kapseln mit mehrschichtiger Hüllmembran, insbesondere zum Immobilisieren lebender Zellen oder von Enzymen (siehe Ansprüche) zum Einsatz in der Medizin. Der Einsatz solcher Kapseln zur Herstellung und/oder

Behandlung alkoholhaltiger Getränke ist nicht offenbart.

Der Anmelder argumentierte in Antwort auf den ersten schriftlichen Bescheid, daß der Fachmann aufgrund der in D1 für Membranen mit Ionenbindungen diskutierten Nachteile wie geringer mechanischer Stabilität (Seite 2, Zeilen 12 - 18) der Fachmann keinen Anlaß gehabt hätte, gattungsgleiche Hüllstrukturen mit Ionenverbindungen, wie aus D4 bekannt, zur Immobilisierung stark wachsender und/oder Kohlendioxid produzierender Mikroorganismen, wie Hefen einzusetzen.

Hierzu ist zu bemerken, daß der Teilsatz in Anspruch 1 "zur Herstellung und/oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke" als zur genannten Behandlung/Herstellung geeignet anzusehen ist (siehe Richtlinien C-III, 4.8). Die Mikroorganismen und Enzyme sind im Anspruch 1 nicht weiter spezifiziert. Zumindest der Einsatz bestimmter Enzyme (in der Beschreibung sind auf Seite 1, zweiter Absatz Pektinasen zur Beschleunigung der Mostklärung aufgeführt) würde jedoch nicht in den vom Anmelder diskutierten nachteiligen Effekten zu resultieren scheinen. Vielmehr muß die mit der internationalen Prüfung beauftragte Behörde zur Ansicht gelangen, daß der Fachmann auf einem benachbarten technischen Gebiet vorhandenes Wissen jederzeit auf sein eigenes Fachgebiet übertragen würde, wenn er dazu nur Routinearbeiten mit dem üblichen Versuchsaufwand durchführen müßte und wenn damit keine unkalkulierbaren Risiken verbunden wären. Der Erhalt eingeschlossener Enzyme in optimalem aktivem Zustand bei kontrolliertem Stoffaustausch, wie zum Beispiel für Bioreaktoren vorgeschlagen (siehe D4, Spalte 1, Zeilen 26 - 49), zu ähnlichem Zweck in der Herstellung alkoholischer Getränke ist für den Fachmann deshalb eine fachübliche Maßnahme.

Folglich ermangelt es dem Gegenstand des Anspruchs 1 sowie der abhängigen Ansprüche 2 - 8, 11 und 14 - 19 an erfinderischer Tätigkeit im Hinblick auf die Lehre aus D4 (Art. 33(3) PCT).

- 3) Der Gegenstand der abhängigen Ansprüche 9, 10, 12, 13 sowie der unabhängigen Ansprüche 20 und 21 scheint im Lichte des bekannten Stands der Technik neu und erfinderisch zu sein (Art. 33(2), (3) PCT).

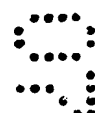
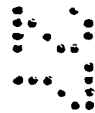
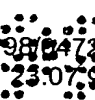
Die unter Punkt 2b, oben dargestellte Argumentation des Anmelders bezüglich des Zögerns des Fachmanns, Membranen mit Ionenbindungen für die schnell wachsenden Mikroorganismen aus der Herstellung oder Behandlung alkoholischer Getränke zu verwenden, können im wesentlichen anerkannt werden. Der Fachmann hätte somit keinen Anlaß gehabt, die aus D1 - D3 bekannten Kapseln dahingehend abzuändern, daß sie eine mehrschichtige Hüllmembran gemäß D4 aufweisen. Die erzielten Vorteile sind die gleichen, wie unter Punkt 2a, oben diskutiert.

Sektion VII

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1 - D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

Sektion VIII

- 1) Ein relativer Begriff wie "niedermolekulare[n] Alkohole[n]" ohne eindeutigen Bezugspunkt auf dem Gebiet der organischen Chemie, der keine allgemein anerkannte Bedeutung hinsichtlich seiner Höchstzahl an Kohlenstoffatomen hat, ist mehrdeutig und deshalb nicht geeignet, den Gegenstand des Schutzbegehrens im Anspruch 21 klar anzugeben (Art. 6 PCT).
- 2) Der Begriff "in hohen Ausbeuten" ist relativ, führt zu Unklarheiten, was den Schutzzumfang des Anspruchs 21 betrifft und ist nicht geeignet, den Gegenstand dieses Anspruchs vom Stand der Technik abzugrenzen (Art. 6 PCT; siehe auch Richtlinien C-III, 4.5).
- 3) Der Schutzzumfang der Ansprüche 9 und 17 ist aufgrund der verwendeten Begriffe "vorzugsweise", "insbesondere", "wie [...]" unklar (Art. 6 PCT; siehe Richtlinien C-III, 4.6).



Geänderter Hauptanspruch

1. Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein,

bestehend aus Mikroapseln, die jeweils mindestens eine das Kapselinnere vollständig umschließende Hüllmembran aufweisen, wobei das Kapselinnere Zellen mindestens einer Spezies von Mikroorganismen und/ oder ein oder mehrere Enzyme umfaßt, und

wobei die Hüllmembran für die im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme nicht durchlässig ist, und

wobei die Hüllmembran für die von den Zellen bzw. Enzymen umzusetzenden Edukte und für zumindest einen Teil der von den Zellen bzw. Enzymen umgesetzten Produkte durchlässig ist.

dadurch gekennzeichnet,

daß die Hüllmembran mindestens zwei radial übereinander angeordnete Schichten aufweist, wobei jede Schicht alle radial darunter angeordnete Schichten vollständig umschließt, und wobei die Schichten keine der im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme aufweisen.

GEÄNDERTES BLATT

PCT
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12G 1/02, 1/073, C12C 11/09, C12N 11/04	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/06527 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. Februar 1999 (11.02.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/04726 (22) Internationales Anmeldedatum: 29. Juli 1998 (29.07.98) (30) Prioritätsdaten: 197 32 710.9 30. Juli 1997 (30.07.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH [DE/DE]; Carl-Zeiss-Strasse 18-20, D-55129 Mainz (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LÖWE, Holger [DE/DE]; Anna-Seghers-Strasse 3, D-55276 Oppenheim (DE). POMMERSHEIM, Rainer [DE/DE]; Elsa-Brandström-Strasse 77, D-55124 Mainz (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH; Carl-Zeiss-Strasse 18-20, D-55129 Mainz (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>	
(54) Title: AGENT FOR PRODUCING AND/OR PROCESSING ALCOHOLIC BEVERAGES, IN PARTICULAR WINE OR SPARKLING WINE, AND USE OF SAID AGENT (54) Bezeichnung: MITTEL ZUR HERSTELLUNG UND/ODER BEHANDLUNG ALKOHOLHALTIGER GETRÄNKE, INSBESONDERE WEIN ODER SCHAUMWEIN, SOWIE DESSEN VERWENDUNGEN (57) Abstract <p>The invention relates to an agent used in the production and/or processing of alcoholic beverages, in particular wine or sparkling wine. This agent is composed of microcapsules which each have an enveloping membrane that encloses the capsule interior completely. The capsule interior contains cells of at least one species of micro-organism, such as yeast or lactic acid bacteria, and/or one or more enzymes. The invention seeks to produce microcapsules having the following characteristics: ability to permanently immobilize the cells or enzymes; presence of enveloping membranes with adjustable transparency and mechanical stability, in accordance with need; liquefiable content of the microcapsules. To this end, the envelope membrane is composed of at least two radially superimposed layers. Each layer encloses all the layers arranged beneath it completely. The invention also relates to the use of this agent in the production of beer and low-molecular alcohols.</p>		
(57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung beschreibt ein Mittel zur Herstellung und/oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein, das aus Mikrokapseln besteht, die jeweils eine das Kapselinnere vollständig umschließende Hüllmembran aufweisen. Das Kapselinnere weist Zellen mindestens einer Spezies von Mikroorganismen, wie Hefen oder Milchsäurebakterien, und/oder ein oder mehrere Enzyme auf. Die Aufgabe der Erfindung, Mikrokapseln bereitzustellen, die die Zellen bzw. Enzyme dauerhaft immobilisiert, bei denen die Durchlässigkeit und die mechanische Stabilität der Hüllmembran gezielt einstellbar sind, und bei denen der Inhalt der Mikrokapseln verflüssigbar ist, wird dadurch gelöst, daß die Hüllmembran mindestens zwei radial übereinander angeordnete Schichten aufweist. Jede Schicht umschließt alle radial darunter angeordnete Schichten vollständig. Weiterhin betrifft die Erfindung die Verwendung des Mittels zur Herstellung von Bier und niedermolekularen Alkoholen.</p>		

BEST AVAILABLE COPY

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbajdschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

**Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke,
insbesondere Wein oder Schaumwein, sowie dessen Verwendungen**
Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf ein Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein, gemäß des Oberbegriffs des Hauptanspruchs sowie auf dessen Verwendungen.

Bei der Herstellung von alkoholhaltigen Getränken, insbesondere von Wein oder Schaumwein, werden unterschiedliche Spezies von Mikroorganismen, insbesondere Hefen zur alkoholischen Gärung, eingesetzt. Zur Optimierung der Ergebnisse werden dem Produkt oder Vorstufen davon weitere Spezies von Mikroorganismen und Enzyme zugesetzt. So dienen beispielsweise Milchsäurebakterien dem Abbau von Äpfelsäure und Pektinasen der Beschleunigung der Mostklärung.

Der Prozeß der alkoholischen Gärung kann durch Maßnahmen, wie rasches Abkühlen, Zusatz von Schwefeldioxid oder Filtration, unterbrochen werden. Diese Verfahren zur Inaktivierung der Hefen sind jedoch aufwendig, nur ungenau steuerbar und können die Qualität des Produktes beeinträchtigen. Damit gestaltet sich auch ein zeitlich versetzter Einsatz unterschiedlicher Spezies von Hefen als aufwendig.

Nach der Behandlung beispielsweise eines Weines mit Milchsäurebakterien zur Reduzierung des Säuregehaltes müssen die zugesetzten Mikroorganismen abgetrennt werden, was bei den vergleichsweise kleinen Milchsäurebakterien über Membranfiltration stattfindet. Jedoch ist hierbei eine vollständige Entfernung der Mikroorganismen nicht immer gewährleistet. Im Wein verbliebene Milchsäurebakterien können Glucose zu Essigsäure umwandeln und so den Wein verderben.

Enzyme, wie Proteasen zum Abbau von Peptiden und Proteinen, werden dem Produkt oder Vorstufen hiervon in flüssiger Form zugesetzt. Die Inaktivierung von Enzymen erfolgt in der Regel durch Erhitzen, womit eine Beeinträchtigung des Produktes einhergehen kann sowie eine Wiederverwertung der zum Teil teuren Enzyme ausscheidet.

Es sind Mittel zur Flaschengärung bei der Schaumweinherstellung bekannt, die aus in Alginat-Kügelchen immobilisierten Hefen bestehen (G. Troost et. al., Sekt, Schaumwein, Perlwein, Stuttgart 1995 sowie DE 39 08 997 A1). Hiermit konnte das zeitaufwendige manuelle Abrütteln des feinen Hefedepots durch das rasche Absinken der Alginat-Kügelchen in der Sektfflasche ersetzt werden. Nachteilig solcher Mittel, bei denen die Kügelchen nicht von einer zellenfreien Hüllmembran umgeben sind, ist jedoch, daß sie keine hohe mechanische Stabilität aufweisen und ein Auswachsen, insbesondere relativ kleiner Mikroorganismen, nicht ausreichend verhindern können, womit nach der Abtrennung der Kügelchen Mikroorganismen im Produkt zurückbleiben können. Eine Mehrfachverwendung solcher Mittel ist damit nur schwer realisierbar. Weiterhin sind Enzyme aufgrund ihrer geringen Größe in solchen Alginat-Kügelchen in der Regel nicht immobilisierbar.

In der US 4,996,150 wird ein Verfahren zur Mikroverkapselung von Biokatalysatoren, vorzugsweise Hefen, sowie deren Verwendung zur kontinuierlichen Herstellung von Ethanol beschrieben. Die Biokatalysatoren sind in einer Matrix aus einem anionischen Polysaccharid und einem kationischen Polymer enthalten. Auch hier weisen die Mikro kapseln keine zellenfreie Hüllmembran auf, so daß ein Auswachsen von Hefen nicht ausreichend verhindert werden kann. Darüber hinaus ist eine ausreichend sichere Immobilisierung kleinerer Biokatalysatoren, wie Enzyme, kaum möglich.

Die US 4,659,662 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung alkoholischer Getränke oder Bioalkohol unter Verwendung von Hefen enthaltenden Mikro kapseln. Die Hefen können in einem Matrixmaterial eingebettet sein, daß zusätzlich von einer Hüllmembran umgeben ist, die jedoch gleich dem Matrixmaterial ist. Als Beispiel werden in Calcium-Alginat immobilisierte Hefen genannt. Die Hüllmembran besteht jedoch nur aus einer Schicht und ist zudem von Zellen durchsetzt, d. h. nicht zellenfrei. Daher kann ein Auswachsen der Hefen nicht ausreichend verhindert werden und eine ausreichend langzeitstabile Immobilisierung von Enzymen ist kaum möglich.

Die DE 34 32 923 C2 betrifft Biokatalysatoren mit immobilisierten Zellen, die von einer einschichtigen, zellenfreien Hüllmembran umgeben sind. Die das Kapselinnere umschließende und für die Zellen nicht durchlässige Hüllmembran kann aus einem ionisch oder kovalent vernetzten Gel bestehen.

Als Verwendungsbeispiel wird die Sektherstellung angeführt. Vorzugsweise besteht die Hüllmembran aus der selben Substanz wie das Matrixmaterial im Kapselinneren. Hierzu werden das Vernetzungsmittel, beispielsweise Calcium-Ionen, im Überschuß enthaltende Kügelchen, hier aus Calciumalginat, nochmals in eine zellenfreie, die Hüllmembran bildende Substanz, hier Alginat-Lösung, gegeben. Von Nachteil hierbei ist, daß eine Verflüssigung des Kapselinhalts ohne ein Auflösen der Hüllmembran nicht möglich ist. Insbesondere bei Enzymen ermöglicht jedoch ein verflüssigtes Kapselinneres den Erhalt der natürlichen Konformation und damit der Aktivität des Enzyms. Darüber hinaus lassen sich mit solchen Hüllmembranen die Anforderungen, wie gezielte Einstellbarkeit der Durchlässigkeit und eine ausreichend hohe mechanische Stabilität, kaum erreichen.

Die Aufgabe der Erfindung liegt darin, ein Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung von alkoholischen Getränken, insbesondere Wein oder Schaumwein, gemäß des Oberbegriffs des Hauptanspruchs zur Verfügung zu stellen, bei dem die Zellen bzw. Enzyme dauerhaft immobilisiert sind, bei dem die Durchlässigkeit und die mechanische Stabilität der Hüllmembran gezielt einstellbar sind, und bei dem der Inhalt der Mikrokapseln verflüssigbar ist.

Weiterhin liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, Verwendungen des erfindungsgemäßen Mittels aufzuzeigen.

Die Aufgabe wird durch ein Mittel mit den Merkmalen des Anspruchs 1 sowie durch die Verwendungen nach den Ansprüchen 20 und 21 gelöst, wobei die Unteransprüche vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung betreffen.

Die zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholischer Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein, eingesetzten Spezies von Mikroorganismen und/ oder Enzyme sind dadurch immobilisiert, daß diese im Innern einer Mikrokapsel enthalten sind, und daß eine Hüllmembran das Kapselinnere vollständig umschließt. Ein Austreten der Mikroorganismen bzw. Enzyme wird dadurch verhindert, daß die Hüllmembran für diese Mikroorganismen bzw. Enzyme nicht durchlässig ist. Um eine Stoffumsetzung zu gewährleisten, ist die Hüllmembran für die umzusetzenden Stoffe (Edukte), wozu auch die für die Mikroorganismen notwendigen Nährstoffe zählen, beispielsweise Glucose, und für zumindest einen Teil der erzeugten bzw.

umgewandelten Stoffe (Produkte), beispielsweise Alkohol und Kohlendioxid, durchlässig. Die Anforderungen an die Durchlässigkeit und die mechanische Stabilität werden durch eine Hüllmembran erfüllt, die mindestens zwei radial übereinander angeordneten Schichten aufweist, wobei jede Schicht alle radial darunter angeordnete Schichten vollständig umschließt. Vorteilhaft sind die einzelnen Schichten ionisch und/ oder kovalent miteinander verbunden.

Erst dieser mehrschichtige Aufbau erlaubt die dauerhafte Immobilisierung der Zellen bzw. Enzyme für die Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, wie Wein oder Schaumwein. So wird etwa ein Auswachsen der Hefen und eine hiermit einhergehende Zerstörung der Mikrokapseln effektiv verhindert. Durch die hohe mechanische Stabilität lassen sich die Mikrokapseln auch in größeren Bioreaktoren einsetzen, ohne daß die Mikrokapseln zerdrückt werden oder platzen. Diese erhöhte Stabilität ermöglicht auch das Kapselinnere zu verflüssigen, ohne daß die Mikrokapseln hierdurch mechanisch zu instabil werden. Darüber hinaus kann durch eine geeignete Auswahl der mindestens zwei Schichten die Durchlässigkeit der Hüllmembran gezielt eingestellt werden, was für die Immobilisierung von Enzymen von entscheidender Bedeutung ist.

Bevorzugt weisen nicht nur die äußeren Schichten, sondern auch die innerste Schicht der Hüllmembran keine der im Innern der Mikrokapseln enthaltenen Zellen bzw. Enzyme auf.

Bevorzugt bestehen mindestens zwei Schichten der Hüllmembran aus unterschiedlichen Substanzen. So kann beispielsweise eine äußere Schicht (Stützschrift) aus einer Substanz bestehen, die eine hohe mechanische Stabilität der Mikrokapseln gewährleistet, während eine innere Schicht (Regelschrift) aus einer Substanz besteht, die eine gezielte Einstellung der Durchlässigkeit dieser Schicht und damit der Hüllmembran ermöglicht.

Nach einer vorteilhaften Ausführungsform sind die im Innern der Mikrokapsel enthaltenen Zellen bzw. Enzyme in einer Matrix eingebettet. Diese Matrix kann aus einer Alginat-Verbindung eines mehrwertigen Kations, beispielsweise Calcium, Strontium, Barium, Aluminium oder/ und Eisen aufgebaut sein.

Gemäß einer anderen vorteilhaften Ausführungsform sind die Zellen bzw. Enzyme im Innern der Mikrokapsel in einer Flüssigkeit frei beweglich, was

insbesondere zum Erhalt der natürlichen Konformation der Enzyme von Vorteil ist. Hierdurch bleibt trotz der Immobilisierung die natürliche Aktivität der Zellen bzw. Enzyme erhalten. Werden die Mikrokapseln durch Ausfällung von Tropfen einer die Zellen bzw. Enzyme enthaltenden Lösung mittels eines Vernetzungsmittels hergestellt, kann nach Anbringen der Schichten der Hüllmembran das Kapselinnere wieder verflüssigt werden. Besteht die Substanz der Matrix im Kapselinneren beispielsweise aus Calcium-Alginat, so kann das mehrwertige Metallkation gegen einwertige Kationen, beispielsweise Natrium oder Kalium, ausgetauscht werden, um das Innere der Mikrokapsel wieder zu verflüssigen. Daher ist es bevorzugt, daß mindestens eine Schicht der Hüllmembran aus einer von der die Zellen bzw. Enzyme einbettenden, die Matrix bildenden Substanz unterschiedlichen Substanz besteht. Bei bekannten Mikrokapseln, deren einschichtige Hüllmembran aus der gleichen Substanz wie die Matrix im Kapselinneren besteht, ist diese Verflüssigung des Kapselinneren nicht möglich, da sich hier auch die Hüllmembran auflösen würde.

Bei der Verwendung eines mittels mehrwertiger Kationen vernetzbaren Substanz, beispielsweise Alginat mittels Calcium, ist der Austausch der mehrwertigen Kationen gegen einwertige Kationen weiterhin dadurch von Vorteil, daß mehrwertige Kationen, wie Calcium, in der Regel bei der Weinherstellung unerwünscht sind. So kann beispielsweise eine Matrix aus Calciumalginat durch Einbringen der Mikrokapseln in eine wäßrige Natriumcitrat enthaltende Lösung, was einen Austausch der Calcium-Ionen gegen Natrium-Ionen bewirkt, verflüssigt werden. Diese Mikrokapseln, beispielsweise in der Weinherstellung eingesetzt, binden bevorzugt mehrwertige Ionen aus dem umzusetzenden Substrat, wie Traubensaft, was von vorteilhafter Wirkung ist. Weist die Matrix dieser Mikrokapseln wieder einen zu hohen Gehalt an mehrwertigen Kationen auf, so kann durch Behandlung mit einer einwertigen Kationen enthaltenden Lösung diese wieder regeneriert werden.

Mikrokapseln mit einer Hüllmembran sowohl aus einer Schicht als auch aus mehreren Schichten sind in der Medizin zur Immobilisierung von Zellen bzw. Enzymen bekannt. So wurden Langerhanssche Zellen in einer Mikrokapsel eingeschlossen, deren Hüllmembran aus einer aus Alginat und Poly-L-Lysin bestehenden Schicht aufgebaut war (F. Lim et. al., Science, 210 (1980) 908 - 910). In der EP-A-681834 wurden Mikrokapseln, deren Hüllmembran aus mehreren Schichten aufgebaut ist, zum Einsetzen in Gewebe von Lebewesen

beschrieben. An solche Mikrokapseln werden Anforderungen an die Gewebeverträglichkeit, eine geringe Immunreaktion und an die Einsetzbarkeit in lebendes Gewebe gestellt.

Durch eine Optimierung des Aufbaus von Mikrokapseln mit mehrschichtiger Hüllmembran im Hinblick auf die Herstellung bzw. Behandlung alkoholhaltiger Getränke, lassen sich vorteilhaft entsprechende Mikroorganismen, wie in der alkoholischen Gärung eingesetzte Hefen oder Milchsäurebakterien, und/ oder Enzyme immobilisieren. Insbesondere muß bei der Immobilisierung von Hefen zur alkoholischen Gärung die Stabilität trotz der Produktion von Kohlendioxid und einem raschen Wachstum der Hefezellen gewährleistet sein. Dies wird durch Mikrokapseln mit Hüllmembranen, die mindestens zwei radial übereinander angeordnete Schichten aufweisen, erreicht.

Das erfindungsgemäße Mittel hat gegenüber in der Herstellung von alkoholischen Getränken bekannten Mitteln den Vorteil, daß die eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme dauerhaft immobilisiert sind und sich aufgrund der einfachen Handhabung bequem dosiert zugeben und auch einfach, rasch und vollständig aus dem Produkt entfernen lassen. Damit ist eine gezielte Beeinflussung der einzelnen Herstellungsschritte ohne eine Beeinträchtigung der Qualität des Produktes möglich. Darüberhinaus lassen sich die Zellen bzw. Enzyme enthaltenden Mikrokapseln wiederverwenden, was insbesondere bei teuren Enzymen zu einer Kosteneinsparung führt. Weiterhin ist aufgrund der selbst bei sedimentierten Mikrokapseln zwischen den Kapseln vorhandenen Hohlräumen sowie der leichten Beweglichkeit der Mikrokapseln in einer Flüssigkeit ein guter Stoffaustausch, insbesondere Gasaustausch bei der alkoholischen Gärung, gewährleistet.

Es kann vorteilhaft sein, die Hüllmembran undurchlässig für sich außerhalb der Mikrokapsel befindliche Wirkstoffe und/ oder Mikroorganismen zu gestalten, die die im Kapselinneren enthaltenen Zellen bzw. Enzyme in ihrer Aktivität beeinträchtigen könnten. So produzieren manche Spezies von in der Weinherstellung eingesetzten Hefen Toxine, die für andere Spezies von Mikroorganismen schädlich sind. Durch Verwendung von Mikrokapseln, deren Hüllmembran für solche Toxine nicht durchlässig ist, lassen sich solche Mikroorganismen bzw. Enzyme gemeinsam in beispielsweise der Weinherstellung einsetzen.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform enthalten die Mikrokapseln als Mikroorganismen mindestens eine bei der Weinherstellung eingesetzte Hefespezies.

Nach einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist in den Mikrokapseln mindestens eine Spezies von Milchsäurebakterien enthalten, die beim biologischen Säureabbau zur Weinbehandlung eingesetzt werden.

Verfahren zum Entsäuern von Wein unter Verwendung von in Calcium-Alginat immobilisierten Zellen der Spezies *Leuconostoc oenos* sind aus der US 4,380,552 bekannt. Jedoch weisen diese Kügelchen keine Hüllmembran auf, so daß eine ausreichende Stabilität und ein Auswachsen der Zellen nicht gewährleistet ist.

Als Mittel zur Herstellung bzw. Behandlung von alkoholischen Getränken eignen sich vorteilhaft Mikrokapseln, die insbesondere bei der Wein- oder Schaumweinherstellung eingesetzte Enzyme, wie Pektinasen, Glucanasen, β -Glucosidasen, Proteasen oder/ und Glucose-Fructose-Isomerasen enthalten.

Es kann von Vorteil sein, in einer Mikrokapsel sowohl Zellen als auch ein oder mehrere Enzyme zu immobilisieren. Zum einen kann dies die Handhabung erleichtern, zum anderen kann dies insbesondere dann die Produktivität erhöhen, wenn ein Produkt der Mikroorganismen bzw. Enzyme von den anderen in der Mikrokapsel enthaltenen Mikroorganismen bzw. Enzyme weiter umgesetzt wird. So lassen sich vorteilhaft Spezies von in der Weinherstellung eingesetzten Hefen und deren Behandlungsstoffe, wie Hefezellwandpräparate oder/ und Glucose-Fructose-Isomerasen gemeinsam in einer Mikrokapsel immobilisieren. Neben einer Erhöhung der Aktivität der eingesetzten Hefen lassen sich so die einzusetzenden Mengen der zum Teil teuren Behandlungsstoffe reduzieren.

In einer Mikrokapsel lassen sich auch die Aktivität der immobilisierten Zellen bzw. Enzyme steigernde Stoffe einschließen. So ist beispielsweise bekannt, daß die Aktivität der Milchsäurebakterien mit steigendem Säuregehalt abnimmt. Durch Einschluß eines Kationenaustauschers in eine Milchsäurebakterien enthaltende Mikrokapsel, läßt sich am Ort der Milchsäurebakterien der pH-Wert

durch Austausch von Hydroniumionen gegen beispielsweise Kaliumionen erhöhen und so die Aktivität der Milchsäurebakterien steigern. Weitere Beispiele von die Aktivität steigernden Stoffe sind Vitamine, wie Vitamin B₁, oder wachstumsfördernde Proteine.

Vorzugsweise ist mindestens eine Schicht der Hüllmembran aus mindestens einem Polymer aufgebaut. Als Polymer eignet sich vorteilhaft ein Polyelektrolytkomplex, der aus mindestens einem Polykation und einem Polyanion besteht. Geeignete Polyanionen sind beispielsweise Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure, Polyvinylsulfonsäure, Polyvinylphosphonsäure, Alginsäure, Cellulose-Derivate, insbesondere Carboxymethylcellulose oder Cellulose-Schwefelsäureester, Schellack oder Bestandteile von Schellack, wie Aleuritinsäure oder Shellolsäure. Geeignete Polykationen sind beispielsweise Polyethylenimin, Polydimethyldiallylammonium, Poly-L-Lysin oder Chitosan.

Vorteilhaft weisen die Polyanionen bzw. Polykationen einen mittleren Polymerisationsgrad von über 100, vorzugsweise von 100 bis 15.000, auf. Zur gezielten Einstellung der Durchlässigkeit der Hüllmembran werden für die die Durchlässigkeit bestimmende Schicht (Regelschicht) bevorzugt Polymere mit einer engen Molmassenverteilung, beispielsweise synthetische Polyelektrolytkomplexe aus Polyacrylsäure oder Polymethacrylsäure mit Polyethylenimin, verwendet. So wurde die Durchlässigkeit für ein kleines Protein der Größe von etwa 60 kD durch eine Regelschicht aus Polyethylenimin (PEI) (Molmasse 1.000.000) und Polyacrylsäure (PAS) ermittelt. In Tabelle 1 ist der aus den Mikrokapseln diffundierte Anteil des Proteins in Abhängigkeit vom Polymerisationsgrad von PAS nach 60 Stunden Schütteln dargestellt.

Regelschicht	Molmasse von NaPAS	Polymerisationsgrad	Durchlässigkeit nach 60 Stunden
PEI/ PAS	20.000	215	8,4 %
PEI/ PAS	60.000	645	18,9 %
PEI/ PAS	170.000	1828	93,1 %

Tab. 1 Durchlässigkeit der Regelschicht für ein 60 kD Protein in Abhängigkeit von der Molmasse des Polyanions als Natrium-Polyacrylat (NaPAS).

Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, wird die Durchlässigkeit der Regelschicht durch die Polyionen, hier als Polyanion Polyacrylsäure, bestimmt, die einen kleinen Polymerisationsgrad aufweisen, während die Gegenionen, hier als Polykation Polyethylenimin, mit einem hohen Polymerisationsgrad das Gerüst bilden. Bei gleichem Gegenion weisen Polyelektrolytkomplexe mit einem Polyion mit hohem Polymerisationsgrad eine höhere Festigkeit als solche mit niedrigem Polymerisationsgrad auf. Als Gegenionen, die das Gerüst bilden, an das sich die Polyionen mit kleinerem Polymerisationsgrad anlagern, sind Polyionen mit einem Polymerisationsgrad über 50.000 bevorzugt.

Zur Immobilisierung von Enzymen ist mindestens eine Regelschicht mit einem Polymerisationsgrad des Polyanions oder Polykations von 100 bis 1.000 bevorzugt, wobei die das Gerüst bildenden Gegenionen, Polykationen bzw. Polyanionen, höhere Polymerisationsgrade aufweisen. Zur Immobilisierung von Mikroorganismen, wie Hefen, sind dagegen höhere Polymerisationsgrade ausreichend; bevorzugt sind hier Polymerisationsgrade des Polyanions oder Polykations der Regelschicht von 1.000 bis 15.000, wobei auch hier die Gerüst bildenden Gegenionen, Polykationen bzw. Polyanionen, einen höheren Polymerisationsgrad aufweisen. Polyionen mit hohen Polymerisationsgraden haben den Vorteil einer hohen Festigkeit der betreffenden Schicht.

Für die die Festigkeit bestimmende Schicht (Stützschrift) werden vorteilhaft Polyelektrolytkomplexe synthetischer Polykationen bzw. Polyanionen mit hohen Polymerisationsgraden von über 10.000 verwendet. Vorteilhaft lassen sich auch natürliche Polykationen und -anionen, wie Alginsäure und Chitosan oder Cellulose-Derivate, verwenden, bei denen sich eine breite Molmassenverteilung nicht störend auswirkt.

In der Tabelle 2 sind Beispiele für Substanzen der Schichten der Hüllmembran aufgeführt, wobei in der ersten Zeile jeweils angegeben ist, ob sich dieser Aufbau bevorzugt zur Immobilisierung von Hefen und/ oder Enzymen eignet. Der Kern kann zur Immobilisierung ein Alginat aufweisen, das nach Anbringen der Schichten verflüssigt werden kann. In den Spalten der Tab. 2 ist jeweils der Schichtaufbau von Innen nach Außen angegeben. Mit einer größeren Anzahl an Schichten, beispielsweise 4 oder mehr Schichten, kann eine noch höhere Stabilität der Hüllmembran erzielt werden.

	Hefen	Hefen	Hefen oder/ und Enzyme	Hefen oder/ und Enzyme	Enzyme	Enzyme
1. Schicht	PEI/ CMC	PEI/ CMC	Chit/ PAS	Chit/ PAS	PEI/ PAS	PEI/ PAS
2. Schicht	PEI/ CMC	PEI/ CMC	Chit/ CMC	Chit/ CMC	PEI/ CMC	PEI/ CMC
3. Schicht		PEI/ CMC		Chit/ CMC		PEI/ Alg

Tab. 2 Beispiele für den Schichtaufbau der Hüllmembran bei immobilisierten Hefen und/ oder Enzymen (Alg = Alginat, Chit = Chitosan, CMC = Carboxymethylcellulose, PAS = Polyacrylsäure, PEI = Polyethylenimin).

Darüber hinaus eignen sich als Polymere für den Aufbau einer Schicht der Hüllmembran auch Naturkautschuk, Polystyrol oder/ und Polymethylmethacrylat oder deren Gemisch mit einem oder mehreren Polyelektrolytkomplexen.

Die Erfindung betrifft auch zwei Verwendungen des erfindungsgemäßen Mittels. So läßt sich das Mittel zur Herstellung von Bier verwenden. Hierfür sind Mikrokapseln mit Zellen von einer oder mehrerer in der Bierherstellung eingesetzter Spezies von Hefen zu verwenden. Ebenso läßt sich das Mittel zur Herstellung niedermolekularer Alkohole, wie Methanol oder/ und Ethanol, verwenden, wobei Mikrokapseln mit für die Alkoholerzeugung in hohen Ausbeuten geeigneten Hefen Verwendung finden.

Zur Herstellung und/ oder Behandlung von beispielsweise Wein unter Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels sind die Mikrokapseln in einen Trauben-, Beeren- und/ oder anderen Fruchtsaft, beispielsweise Apfelsaft, oder einen Wein, einzubringen. Die Mikrokapseln verbleiben solange in der Lösung, bis die teilweise oder vollständige Umsetzung, beispielsweise die alkoholische Gärung, stattgefunden hat. Anschließend werden die Mikrokapseln aus der Lösung entfernt.

Gegenüber bekannten Verfahren, bei der die eingesetzten Mikroorganismen bzw. Enzyme abfiltriert werden müssen, weist dieses Verfahren den entscheidenden Vorteil auf, daß sich die im Herstellungs- bzw. Behandlungsprozeß eingesetzten Zellen bzw. Enzyme im letzten Schritt des Verfahrens einfach, rasch und vollständig entfernen lassen. Damit ist die

Verweilzeit der Mikroorganismen bzw. Enzyme in der Lösung sehr genau einstellbar.

Aufgrund der Größe der Mikrokapseln, bevorzugt sind Durchmesser von einem halben bis wenigen Millimetern, lassen sich die Mikrokapseln einfach und vollständig aus der Lösung entfernen. Hierfür eignen sich mechanische Verfahren, beispielsweise mittels eines Siebes, oder Dekantieren der überstehenden Flüssigkeit nach vorheriger Sedimentation der Mikrokapseln. Bei diesen Arten der Entfernung werden die Mikrokapseln nicht zerstört, so daß diese ggf. nach zwischenzeitlicher Aufbewahrung in einer Nährlösung wiederverwendet werden können. Insbesondere bei teuren Enzymen können hierdurch Produktionskosten gesenkt werden.

Vorteilhaft wird die Lösung zumindest im Bereich der Mikrokapseln so temperiert, daß die Zellen bzw. Enzyme eine optimale Aktivität aufweisen, wobei eine mögliche Beeinflussung der Qualität des Produktes zu berücksichtigen ist.

Es lassen sich verschiedene in Mikrokapseln immobilisierte Mikroorganismen bzw. Enzyme gleichzeitig oder/ und zeitlich versetzt einsetzen. Bei einem zeitlich versetzten Einsatz lassen sich die verschiedenen Mikrokapseln nacheinander der Lösung zugeben und gemeinsam entfernen oder die Verfahrensschritte Einbringen, Verweilen, Entfernen werden mit der selben Lösung unter Verwendung verschiedener in Mikrokapseln immobilisierter Zellen bzw. Enzyme nacheinander mehrfach durchlaufen. Der Einsatz unterschiedlicher Mikroorganismen bzw. Enzyme kann somit gezielt zur Erhöhung der Komplexität etwa eines Weines genutzt werden.

Als Bioreaktor zur Herstellung von niedermolekularen Alkoholen, insbesondere Ethanol, oder alkoholischen Getränken, insbesondere Wein oder Schaumwein, kann ein Fließbettreaktor, in dem die erfindungsgemäßen Mittel enthalten sind, verwendet werden. Geeignete Reaktortypen werden auch in Lüders, 'Technologie mit immobilisierten Hefen', Brauwelt 1994, 57 aufgezeigt.

Der Bioreaktor kann auch mindestens eine Röhre aufweisen, in der die Mikrokapseln enthalten sind. Vorteilhaft sind die beiden Öffnungen der Röhre mit die Mikrokapseln zurückhaltenden Sieben verschlossen. Hierdurch entfällt

ein Abtrennen der Mikrokapseln aus der umgesetzten Lösung. Der Durchmesser geeigneter Röhren liegt bevorzugt im Bereich von einem bis mehreren Zentimetern.

Die umzusetzende Flüssigkeit wird durch die Röhre geleitet, wobei mehrere Röhren parallel oder/ und in Serie miteinander verbunden sein können. Bei einem gleichzeitigen Einsatz von verschiedenen in Mikrokapseln immobilisierten Mikroorganismen bzw. Enzymen sind Röhren gleichen Inhaltes bevorzugt parallel miteinander verbunden, wobei Gruppen von parallel miteinander verbundenen Röhren unterschiedlichen Inhaltes in Serie zusammengeschlossen sind. Es kann auch vorteilhaft sein, einzelne Röhren in Serie miteinander zu verbinden, so daß die Lösung die Röhren nacheinander durchfließt.

Zur Optimierung der Aktivität der eingesetzten Mikroorganismen bzw. Enzyme ist es vorteilhaft das Innere der Röhren, also die Mikrokapseln und die sie umgebende Lösung, zu temperieren. Hierzu weist eine einzelne Röhre oder Gruppen von Röhren vorteilhaft einen gemeinsamen temperierbaren Mantel auf. Durch Kühlung der in den Röhren eingeschlossenen Mikrokapseln läßt sich die Aktivität der Zellen bzw. Enzyme gezielt erniedrigen.

In einer Anlage zur Herstellung von niedermolekularem Alkoholen, insbesondere Ethanol, die mindestens einen Bioreaktor enthält, gelangt die zu vergärende, glucosehaltige Flüssigkeit aus dem Vorratstank in den Mischer. Dort wird sie mit dem Rückfluß aus dem Erhitzer gemischt und dann in den mit Mikrokapseln befüllten Bioreaktor geführt, wo die eigentliche Umwandlung von Kohlenhydraten in Alkohol stattfindet. Der Alkohol wird dann im Heizbehälter und in der Destillierkolonne abgetrennt und im Auffanggefäß für das Hauptprodukt gesammelt. Die Trennung des Alkohols von der restlichen Flüssigkeit geschieht unter Ausnutzung des unterschiedlichen Siedepunktes. Die Restflüssigkeit aus dem Erhitzer kann nach dem Abkühlen im Wärmetauscher wieder im Mischer mit frischer Flüssigkeit angereichert werden und erneut in den Bioreaktor gelangen. Um eine übermäßige Glucoseverdünnung der sich im Kreislauf befindlichen Flüssigkeit zu vermeiden, wird ein Teil des wässrigen Anteils regelmäßig entfernt und als Nebenprodukt in einem Auffanggefäß gesammelt.

Eine Anlage zur Herstellung alkoholischer Getränke weist einen stark vereinfachten Aufbau auf. Die zu vergärende Flüssigkeit wird aus einem Vorratsgefäß in einen erfindungsgemäßen Bioreaktor geführt, wo die Flüssigkeit verweilt oder durch beispielsweise einen Röhrenreaktor zirkuliert. Das alkoholhaltige Produkt wird nach einer für eine teilweise oder vollständige Umsetzung erforderlichen Zeit aus dem Bioreaktor in ein Auffanggefäß geleitet.

Weitere Einzelheiten der Anlagen lassen sich dem nachfolgenden Beschreibungsteil entnehmen, in dem anhand der Zeichnung ein Ausführungsbeispiel näher erläutert ist. Die beigefügte Figur zeigt den schematischen Aufbau einer kontinuierlichen Anlage zur Alkoholherstellung. Die zu vergärende Flüssigkeit wird aus einem Vorratsbehälter (1) in einen Mischer (2) geführt, wo sie sich mit der aus dem Erhitzer (4) rückfließenden Flüssigkeit vermischt. Dieses Gemisch wird im Bioreaktor (3) von in dem erfindungsgemäßen Mittel immobilisierten Hefen zu Alkohol umgesetzt. Die alkoholhaltige Flüssigkeit wird in einen Erhitzer (4) geführt. Aus ihm wird eine Alkohol enthaltende Gasphase in eine Destillierkolonne (5) geleitet. Dort wird der im Vergleich zu Wasser verschiedene Siedepunkt des Alkohols zur Anreicherung des Alkohols ausgenutzt, der im Auffanggefäß für das Hauptprodukt (6) gesammelt wird. Der alkoholarme Teil der vorgegärten Flüssigkeit wird aus dem Erhitzer herausgeführt, in einem Wärmetauscher (8) gekühlt und in den Mischer (2) zurückgeleitet. Damit die sich im Kreislauf befindliche Flüssigkeit einen Mindestgehalt an umzusetzenden Stoffen, insbesondere Glucose, behält, wird ein Teil des wässrigen Anteils regelmäßig aus dem Erhitzer (4) entfernt und als Nebenprodukt in einem Auffanggefäß (7) gesammelt.

Beispiel zur Herstellung von Mikrokapseln:

5 g Natriumalginat (Fa. Kelco, Hamburg) wurden in 700 ml Wasser gelöst. In diese Lösung wurde anschließend 70 g Trockenhefe (Oenoform, Fa. Erbslöh, Geisenheim) eingerührt. Diese Suspension wurde in eine 0,6 %-ige Calciumchlorid-Lösung getropft. Nach einigen Minuten Aushärtezeit wurden die Hefezellen in einer Calcium-Alginat-Matrix enthaltenden Kügelchen erst mit Wasser und dann mit einer wäßrigen 0,05 %-igen Lösung von Polyethylenimin (mittlere Molmasse 1 Mio., Fa. Fluka) und anschließend mit einer wäßrigen 0,06 %-igen Lösung von Carboxymethylcellulose (mittelviskos, Fa. Fluka) gewaschen. Anschließend wurden die so erhaltenen Mikrokapseln mit Wasser gewaschen und dann nochmals in die Polyethylenimin- und die Carboxymethylcellulose-Lösung eingebracht. Nach dem Spülen mit Wasser wurden die Mikrokapseln in Wasser gelagert. Die Mikrokapseln wiesen eine zweischichtige Hüllmembran auf, wobei jede Schicht aus dem Polyelektrolytkomplex Polyethylenimin/ Carboxymethylcellulose bestand. Dadurch, daß erst die Zellen aufweisenden Calcium-Alginat-Kügelchen hergestellt wurden und anschließend die Schichten der Hüllmembran aufgebracht wurden, wiesen die Schichten der Hüllmembran keine Hefezellen auf, die aus den Mikrokapseln herauswachsen könnten. Die so immobilisierten Hefen wiesen die gleiche Aktivität wie in unbeschichteten Calcium-Alginat-Kügelchen immobilisierte Hefen auf.

Patentansprüche

1. Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein,

bestehend aus Mikrokapseln, die jeweils mindestens eine das Kapselinnere vollständig umschließende Hüllmembran aufweisen, wobei das Kapselinnere Zellen mindestens einer Spezies von Mikroorganismen und/ oder ein oder mehrere Enzyme umfaßt, und

wobei die Hüllmembran für die im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme nicht durchlässig ist, und

wobei die Hüllmembran für die von den Zellen bzw. Enzymen umzusetzenden Edukte und für zumindest einen Teil der von den Zellen bzw. Enzymen umgesetzten Produkte durchlässig ist.

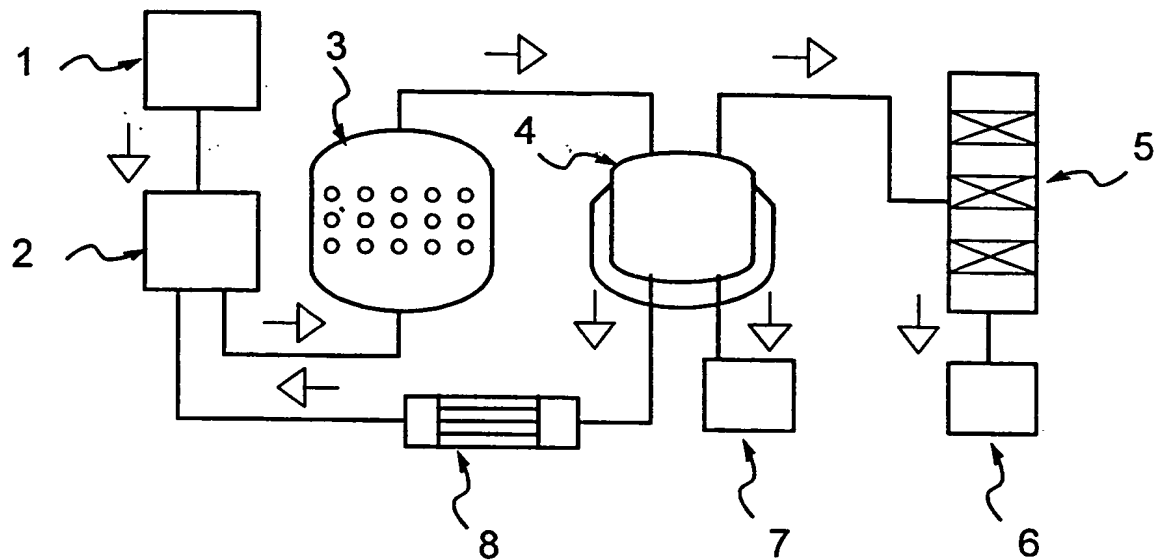
dadurch gekennzeichnet,

daß die Hüllmembran mindestens zwei radial übereinander angeordnete Schichten aufweist, wobei jede Schicht alle radial darunter angeordnete Schichten vollständig umschließt.
2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens zwei Schichten der Hüllmembran aus unterschiedlichen Substanzen bestehen.
3. Mittel nach einem Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die im Innern der Mikrokapsel enthaltenen Zellen bzw. Enzyme in einer Matrix eingebettet sind.
4. Mittel nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix eine Alginat-Verbindung eines mehrwertigen Kations aufweist.

5. Mittel nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eine Schicht der Hüllmembran aus einer von der die Zellen bzw. Enzyme einbettenden, die Matrix bildenden Substanz unterschiedlichen Substanz besteht.
6. Mittel nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix im Innern der Mikrokapsel verflüssigt ist.
7. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Schichten kovalent oder/ und ionisch miteinander verbunden sind.
8. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hüllmembran für außerhalb der Mikrokapsel befindliche Wirkstoffe und/ oder Mikroorganismen, die die im Kapselinneren enthaltenen Zellen bzw. Enzyme in ihrer Aktivität beeinträchtigen, nicht durchlässig ist.
9. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß im Inneren der Mikrokapsel Zellen mindestens einer Spezies von in der alkoholischen Gärung, vorzugsweise bei der Weinherstellung, eingesetzten Hefen enthalten sind.
10. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß im Inneren der Mikrokapsel Zellen mindestens einer Spezies von im biologischen Säureabbau bei der Weinbehandlung eingesetzten Milchsäurebakterien enthalten sind.

11. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß im Inneren der Mikrokapsel ein oder mehrere Enzyme aus der Gruppe der Pektinasen, Glucanasen, β -Glucosidasen, Proteasen oder/ und Glucose-Fructose-Isomerasen enthalten sind.
12. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß im Inneren der Mikrokapsel Zellen von mindestens einer Spezies von Mikroorganismen und mindestens ein Enzym enthalten sind.
13. Mittel nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß im Inneren der Mikrokapsel Zellen mindestens einer Spezies von in der Weinherstellung eingesetzten Hefen sowie mindestens ein Hefezellwandpräparat oder/ und eine Glucose-Fructose-Isomerase enthalten sind.
14. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß im Inneren der Mikrokapsel neben den Zellen bzw. Enzymen mindestens ein die Aktivität der Zellen bzw. Enzyme steigernder Stoff enthalten ist.
15. Mittel nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eine Schicht der Hüllmembran aus mindestens einem Polymer aufgebaut ist.
16. Mittel nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer ein Polyelektrolytkomplex ist.

17. Mittel nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß der Polyelektrolytkomplex mindestens ein Polyanion aus der Gruppe Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure, Polyvinylsulfonsäure, Polyvinylphosphonsäure, Alginsäure, Cellulose-Derivate, insbesondere Carboxymethylcellulose oder Cellulose-Schwefelsäureester, Schellack oder Bestandteile von Schellack, wie Aleuritinsäure oder Shellolsäure, und mindestens ein Polykation aus der Gruppe Polyethylenimin, Polydimethyldiallylammonium, Chitosan oder Poly-L-Lysin aufweist.
18. Mittel nach Anspruch 16 oder 17, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyanion oder das Polykation einen mittleren Polymerisationsgrad von 100 bis 15.000 aufweist, wobei das Polykation bzw. Polyanion als Gegenion einen mittleren Polymerisationsgrad von über 50.000 aufweist.
19. Mittel nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer Polystyrol, Polymethylmethacrylat oder/ und Naturkautschuk oder deren Gemisch mit einem oder mehreren Polyelektrolytkomplexen ist.
20. Verwendung eines Mittels nach einem der Ansprüche 1 bis 19 zur Herstellung von Bier, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrokapseln Zellen einer oder mehrerer in der Bierherstellung eingesetzter Spezies von Hefen enthalten.
21. Verwendung eines Mittels nach einem der Ansprüche 1 bis 19 zur Herstellung von niedermolekularen Alkoholen, vorzugsweise von Ethanol, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrokapseln Zellen einer oder mehrerer Hefespezies enthalten, die die Erzeugung des Alkohols in hohen Ausbeuten ermöglichen.

**Fig. 1**

Geänderter Hauptanspruch

1. Mittel zur Herstellung und/ oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein,

bestehend aus Mikrokapseln, die jeweils mindestens eine das Kapselinnere vollständig umschließende Hüllmembran aufweisen, wobei das Kapselinnere Zellen mindestens einer Spezies von Mikroorganismen und/ oder ein oder mehrere Enzyme umfaßt, und

wobei die Hüllmembran für die im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme nicht durchlässig ist, und

wobei die Hüllmembran für die von den Zellen bzw. Enzymen umzusetzenden Edukte und für zumindest einen Teil der von den Zellen bzw. Enzymen umgesetzten Produkte durchlässig ist.

dadurch gekennzeichnet,

daß die Hüllmembran mindestens zwei radial übereinander angeordnete Schichten aufweist, wobei jede Schicht alle radial darunter angeordnete Schichten vollständig umschließt, und wobei die Schichten keine der im Kapselinneren eingeschlossenen Zellen bzw. Enzyme aufweisen.



(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12G 1/02, 1/073, C12C 11/09, C12N 11/04	A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/06527 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. Februar 1999 (11.02.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/04726 (22) Internationales Anmeldedatum: 29. Juli 1998 (29.07.98) (30) Prioritätsdaten: 197 32 710.9 30. Juli 1997 (30.07.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH [DE/DE]; Carl-Zeiss-Strasse 18-20, D-55129 Mainz (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LÖWE, Holger [DE/DE]; Anna-Seghers-Strasse 3, D-55276 Oppenheim (DE). POMMERSHEIM, Rainer [DE/DE]; Elsa-Brandström-Strasse 77, D-55124 Mainz (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH; Carl-Zeiss-Strasse 18-20, D-55129 Mainz (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i> (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 22. April 1999 (22.04.99)
(54) Title: AGENT FOR PRODUCING AND/OR PROCESSING ALCOHOLIC BEVERAGES, IN PARTICULAR WINE OR SPARKLING WINE, AND USE OF SAID AGENT (54) Bezeichnung: MITTEL ZUR HERSTELLUNG UND/ODER BEHANDLUNG ALKOHOLHALTIGER GETRÄNKE, INSBESONDERE WEIN ODER SCHAUMWEIN, SOWIE DESSEN VERWENDUNGEN (57) Abstract <p>The invention relates to an agent used in the production and/or processing of alcoholic beverages, in particular wine or sparkling wine. This agent is composed of microcapsules which each have an enveloping membrane that encloses the capsule interior completely. The capsule interior contains cells of at least one species of micro-organism, such as yeast or lactic acid bacteria, and/or one or more enzymes. The invention seeks to produce microcapsules having the following characteristics: ability to permanently immobilize the cells or enzymes; presence of enveloping membranes with adjustable transparency and mechanical stability, in accordance with need; liquefiable content of the microcapsules. To this end, the envelope membrane is composed of at least two radially superimposed layers. Each layer encloses all the layers arranged beneath it completely. The invention also relates to the use of this agent in the production of beer and low-molecular alcohols.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung beschreibt ein Mittel zur Herstellung und/oder Behandlung alkoholhaltiger Getränke, insbesondere Wein oder Schaumwein, das aus Mikrokapseln besteht, die jeweils eine das Kapselinnere vollständig umschließende Hüllmembran aufweisen. Das Kapselinnere weist Zellen mindestens einer Spezies von Mikroorganismen, wie Hefen oder Milchsäurebakterien, und/oder ein oder mehrere Enzyme auf. Die Aufgabe der Erfindung, Mikrokapseln bereitzustellen, die die Zellen bzw. Enzyme dauerhaft immobilisiert, bei denen die Durchlässigkeit und die mechanische Stabilität der Hüllmembran gezielt einstellbar sind, und bei denen der Inhalt der Mikrokapseln verflüssigbar ist, wird dadurch gelöst, daß die Hüllmembran mindestens zwei radial übereinander angeordnete Schichten aufweist. Jede Schicht umschließt alle radial darunter angeordnete Schichten vollständig. Weiterhin betrifft die Erfindung die Verwendung des Mittels zur Herstellung von Bier und niedermolekularen Alkoholen.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/04726

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12G1/02 C12G1/073 C12C11/09 C12N11/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12G C12N C12C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 23832 A (COLETICA) 27 October 1994	1-16, 19-21
Y	see page 3, line 12 - line 16; claims 1-9,12-14,41 see page 4, line 4 - line 16 see page 10, line 1 - line 23 see page 16, line 10 - line 25 see page 19, line 33 - page 20, line 22	17,18
Y	EP 0 681 834 A (J. SCHREZENMEIR ET AL.) 15 November 1995 cited in the application see the whole document	17,18
X	US 5 627 062 A (C. DIVIES ET AL.) 6 May 1997 see column 4, line 59 - line 63; claims 1,4; example II	1,3,4, 20,21

-/--

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 February 1999

Date of mailing of the international search report

26/02/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Charles, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/04726

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 133 346 A (K.R. THOMAS ET AL.) 20 February 1985 see page 13, paragraph 2 - page 14, paragraph 2	1-21
A	DD 296 840 A (A. STEINICKE ET AL.) 19 December 1991 see page 1, paragraph 4; claim 1	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/04726

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9423832 A	27-10-1994	FR 2703927 A AT 150665 T DE 69402310 D DE 69402310 T EP 0693963 A ES 2102855 T JP 8508933 T US 5635609 A	21-10-1994 15-04-1997 30-04-1997 25-09-1997 31-01-1996 01-08-1997 24-09-1996 03-06-1997
EP 681834 A	15-11-1995	NONE	
US 5627062 A	06-05-1997	FR 2633937 A US 5389532 A US 5627063 A AU 641360 B AU 3961289 A DK 1791 A EP 0350374 A WO 9000602 A	12-01-1990 14-02-1995 06-05-1997 23-09-1993 05-02-1990 06-03-1991 10-01-1990 25-01-1995
EP 133346 A	20-02-1985	GB 2143544 A, B	13-02-1985
DD 296840 A	19-12-1991	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12G1/02 C12G1/073 C12C11/09 C12N11/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12G C12N C12C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 23832 A (COLETICA) 27. Oktober 1994	1-16, 19-21
Y	siehe Seite 3, Zeile 12 - Zeile 16; Ansprüche 1-9, 12-14, 41 siehe Seite 4, Zeile 4 - Zeile 16 siehe Seite 10, Zeile 1 - Zeile 23 siehe Seite 16, Zeile 10 - Zeile 25 siehe Seite 19, Zeile 33 - Seite 20, Zeile 22	17, 18
Y	EP 0 681 834 A (J. SCHREZENMEIR ET AL.) 15. November 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument	17, 18

-/--



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

19. Februar 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

26/02/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Charles, D

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 627 062 A (C. DIVIES ET AL.) 6. Mai 1997 siehe Spalte 4, Zeile 59 - Zeile 63; Ansprüche 1,4; Beispiel II ---	1,3,4, 20,21
A	EP 0 133 346 A (K.R. THOMAS ET AL.) 20. Februar 1985 siehe Seite 13, Absatz 2 - Seite 14, Absatz 2 ---	1-21
A	DD 296 840 A (A. STEINICKE ET AL.) 19. Dezember 1991 siehe Seite 1, Absatz 4; Anspruch 1 -----	1

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

In additionales Aktenzeichen

PCT/EP 98/04726

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9423832 A	27-10-1994	FR 2703927 A AT 150665 T DE 69402310 D DE 69402310 T EP 0693963 A ES 2102855 T JP 8508933 T US 5635609 A	21-10-1994 15-04-1997 30-04-1997 25-09-1997 31-01-1996 01-08-1997 24-09-1996 03-06-1997
EP 681834 A	15-11-1995	KEINE	
US 5627062 A	06-05-1997	FR 2633937 A US 5389532 A US 5627063 A AU 641360 B AU 3961289 A DK 1791 A EP 0350374 A WO 9000602 A	12-01-1990 14-02-1995 06-05-1997 23-09-1993 05-02-1990 06-03-1991 10-01-1990 25-01-1995
EP 133346 A	20-02-1985	GB 2143544 A,B	13-02-1985
DD 296840 A	19-12-1991	KEINE	

VERTEILUNG DER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts EM 49-97	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 98/ 04726	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/07/1998	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30/07/1997
Anmelder INSTITUT FÜR MIKROTECHNIK MAINZ GMBH et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nichtrecherchierbar erwiesen (siehe Feld I).
2. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).
3. ☐ In der internationalen Anmeldung ist ein Protokoll einer Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz offenbart; die internationale Recherche wurde auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt,
 - ☐ das zusammen mit der internationalen Anmeldung eingereicht wurde.
 - ☐ das vom Anmelder getrennt von der internationalen Anmeldung vorgelegt wurde,
 - ☐ dem jedoch keine Erklärung beigefügt war, daß der Inhalt des Protokolls nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der eingereichten Fassung hinausgeht.
 - ☐ das von der Internationalen Recherchenbehörde in die ordnungsgemäße Form übertragen wurde.
4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**
 - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
 - ☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt.
5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**
 - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
 - ☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der Feld III angegebenen Fassung von dieser Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Internationalen Recherchenbehörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.
6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen:
Abb. Nr. _____
 - ☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen
 - ☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
 - ☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.